

## 明 細 書

## アレルギー分解剤、および抗アレルギー羽毛

## 技術分野

- 5      本発明は、金属フタロシアニンの誘導体を有効主成分とし、アレルギーを分解する薬剤、その薬剤を使用してアレルギーを分解する方法、および金属フタロシアニンの誘導体が担持された抗アレルギー羽毛に関するものである。

## 10    背景技術

- アレルギー症状は、皮膚や、呼吸器、消化器からアレルギーがヒトの身体に侵入すると、ヒトが生来的に持つ抗原抗体反応に誘発されて体内にヒスタミンやロイコトリエンなどの化学伝達物質が遊離したり、活性酸素が生ずるため、二次症状として発熱、発疹、そう痒、嘔吐、鼻炎など
- 15    を発症する。このようなアレルギー症状は、アレルギーの種類とヒトの各個体が持つ体質との組み合わせに依存して発症する。

- アレルギーは、例えばダニ、その死骸や排泄物、スギ・ブタクサ・カモガヤ等の花粉、細菌、かび、卵、牛乳、魚貝類、大豆、昆虫、獣毛、獣やヒトのフケなどの成分として含まれ、多くは蛋白質である。アレルギー
- 20    症状に効果を示す投薬剤は未だない現状において、アレルギー症状を発症させないためには、アレルギー体質を持つヒトからアレルギーを遠ざけることが肝要である。しかし、アレルギーは、自然界に存在するものも数多く、ヒトが生活するに欠かせないものに付随していることもあるため、生活圏から全面的に取り除くことが極めて困難であり、実質
- 25    上不可能である。

発生したアレルギーを除去する手段として、特開 2 0 0 0 - 5 5 3 1

号公報には、抗アレルギーフィルターが示されている。フィルターに茶の抽出成分である茶ポリフェノールをアレルギー不活性剤として添着している。特開 2001-214367 号公報には、アレルギーと反応して不活性化させるジルコニウム塩を含有させた綿、麻、羊毛、絹、レーヨン、ナイロン、ポリエステル、アクリル等の抗アレルギー繊維、および寝具、マスク、カーテン等の繊維製品が示されている。

また、繊維製品のダニを防除する手段として防ダニ剤処理が知られている。防ダニ剤は、少量では忌避効果しか期待できず、ダニを殺虫するには多量用いる必要があり、ヒトへの安全性上その使用量に制限がある。

10 しかも防ダニ剤は、ダニの死骸や排泄物等のダニ由来のアレルギーによって発症するアレルギー症状に対して、何ら抑制効果が認められない。

水鳥の羽毛製品は、保温性と保湿性と通気性とに優れているので、寝具や衣類の素材として汎用されている。羽毛製品は、動物性蛋白質である羽毛がダニの餌であるうえ、ヒトの発汗等による水分を適度に吸収し、

15 ヒトの体温で適度に暖められていて、ダニが増殖する環境となっているので、ダニ由来のアレルギー量が著しく増大し易い。防ダニ剤で処理されておらず、安全で、ダニ由来のアレルギーを吸着する効果を有する抗アレルギー羽毛は知られていない。

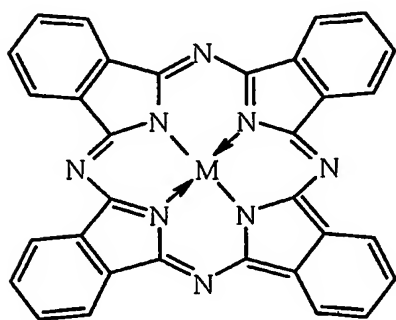
一方、特開昭 56-63355 号公報、特開昭 61-258806 号公報には、金属フタロシアニンを有効成分とする消臭剤が開示されている。特開昭 61-258806 号公報には金属フタロシアニンの誘導体が酸化還元触媒として作用して消臭剤としての効果を示す旨が記載されている。

## 25 発明の開示

本発明の発明者は、金属フタロシアニンの酵素様触媒作用を永年に渡

って研究し、その吸着性や酸化還元触媒機能によって蛋白質を変性させることを見出した。アレルギーの発生を全面的に取り除くことは極めて困難であることに鑑みて、本発明は、金属フタロシアニンの持つそのような特性を利用して、発生したアレルギーの分解剤を提供するとともに、  
 5 その分解剤を利用するアレルギーの分解方法の提供を第一の目的とする。また、本発明は、防ダニ剤を用いず、ダニ、その死骸や排泄物等のダニ由来のアレルギーを吸着する効果を有する抗アレルギー羽毛、それを含む組成物および羽毛製品の提供を第二の目的とする。

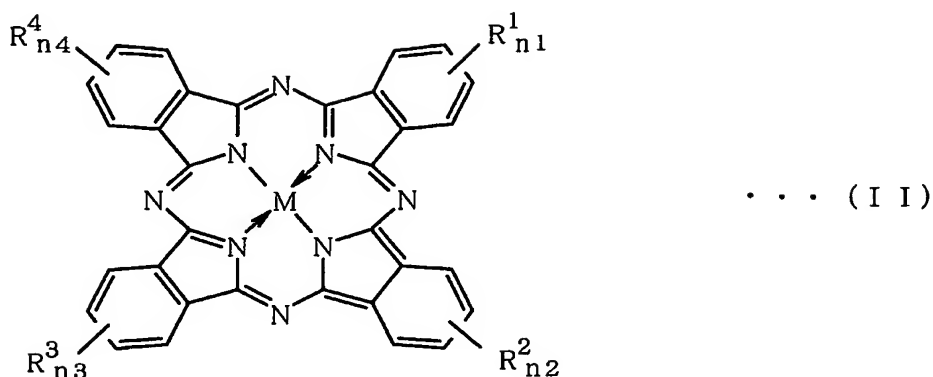
前記の第一の目的を達成するためになされた本発明のアレルギーの  
 10 分解剤は、下記式 (I)



... (I)

(式 (I) 中、MはFe、Co、Mn、Ti、V、Ni、Cu、Zn、Mo、W、Osから選択される金属) で示される金属フタロシアニンの誘導体を有効成分に含むことを特徴とする。この金属フタロシアニンの誘導体は、前記式 (I) の骨格が置換基で置換されていても、い  
 15 なくてもよい。

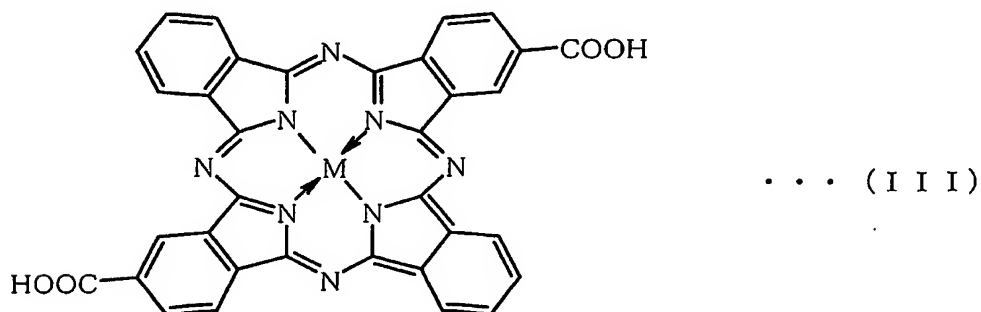
アレルギーの分解剤は、前記金属フタロシアニンの誘導体が、下記式 (II)



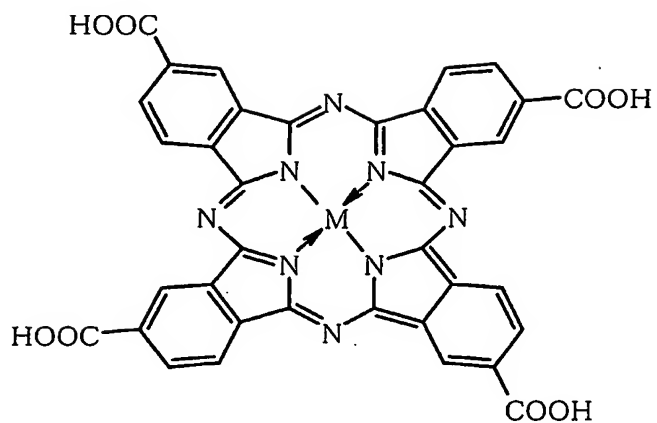
(式 (I I) 中、Mは、前記式 (I) に同じ； $R^1_{n1}$ 、 $R^2_{n2}$ 、 $R^3_{n3}$  および  $R^4_{n4}$  は、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  が同一または異なり、C  
OOH基およびSO<sub>3</sub>H基の少なくとも何れかの置換基であり、n 1、  
5 n 2、n 3 および n 4 が同一または異なり、0～4で、かつ、 $1 \leq n$   
 $1 + n 2 + n 3 + n 4 \leq 8$ を満たす該置換基の数である。)で示される  
化合物、またはその塩であることを特徴とする。

アレルゲンの分解剤は、前記金属フタロシアニンの誘導体が、金属  
フタロシアニンジカルボン酸、金属フタロシアニンテトラカルボン酸、  
10 金属フタロシアニンオクタカルボン酸、金属フタロシアニンジスルホ  
ン酸、金属フタロシアニンテトラスルホン酸、金属フタロシアニンオ  
クタスルホン酸、またはこれら酸の塩であることを特徴とする。

金属フタロシアニンジカルボン酸の構造式は、下記式 (I I I)

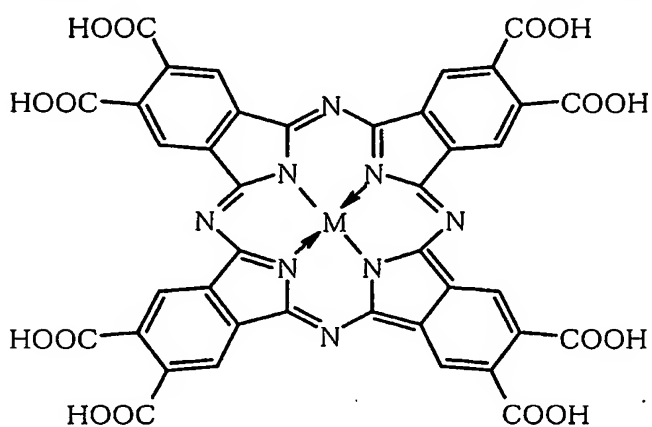


15 金属フタロシアニンテトラカルボン酸の構造式は、下記式 (I V)



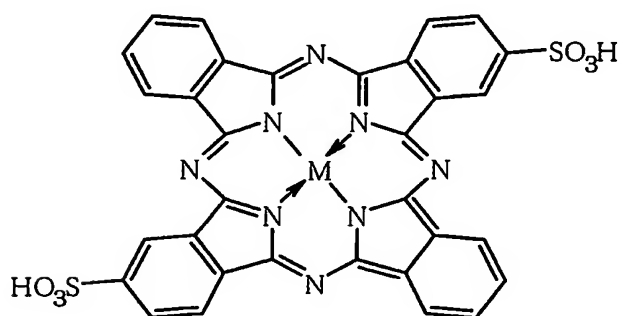
... (IV)

金属フタロシアニンオクタカルボン酸の構造式は、下記式 (V)



... (V)

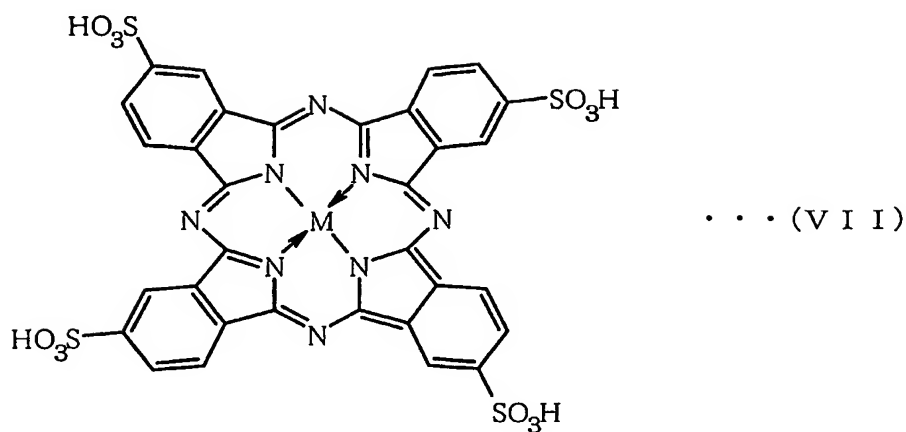
金属フタロシアニンジスルホン酸の構造式は、下記式 (VI)



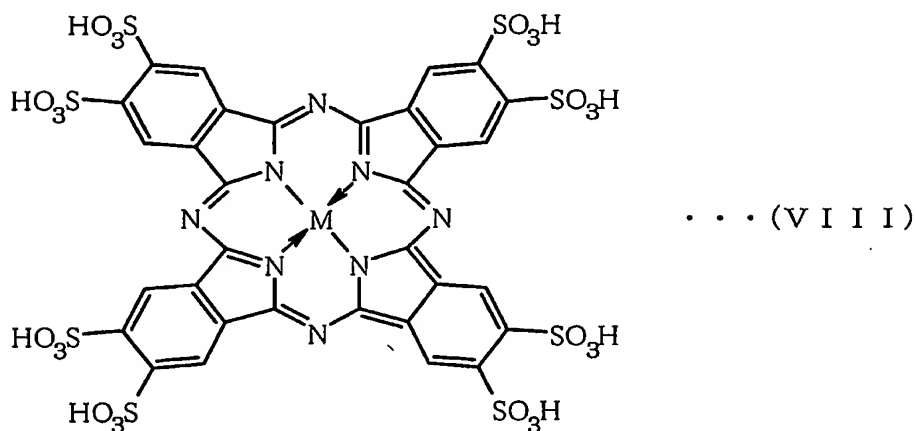
... (VI)

5

金属フタロシアニンテトラスルホン酸の構造式は、下記式 (VII)



金属フタロシアニンオクタスルホン酸の構造式は、下記式 (VII I) である。



で例示される。

- 5 アレルゲンの分解剤は、前記アレルゲンが蛋白質由来のアレルゲンであることを特徴とする。

アレルゲンの分解剤は、前記金属フタロシアニンの誘導体を、担体に担持または混合してあることを特徴とする。

- また前記の第一の目的を達成するためになされたアレルゲンの分解方法、
- 10 方法は、前記金属フタロシアニンの誘導体を有効成分に含むアレルゲンの分解剤を生活環境内に置くことを特徴とする。

本発明のアレルゲンの分解剤の有効成分である金属フタロシアニン

の誘導体は、その中心金属に、アレルゲンの蛋白質を配位し、空気中の酸素酸化によってペプチド結合を切ることで、低分子化させたり、分子構造を変化させたりする。金属フタロシアニンの誘導体は、アレルゲンを単に吸着するだけではなく、分解触媒として作用するので、その作用が永続的である。アレルゲンはヒトの身体に侵入し、その分子構造によってヒトが持つ抗体に特異的に結合しアレルギー症状を示すが、アレルゲンが低分子化したり、アレルゲンの分子構造が変化したりしていると、それまで反応していた抗体に結合することがない。

生活環境内にあるアレルゲンは、この分解剤によって多くが分解され、僅かな残余がアレルギー体質を持つヒト身体内に入ってもアレルギー症状を発症する閾値まで濃度が到達しない。そのため、本発明のアレルゲンの分解剤が生活環境内に置かれていれば、アレルギー体質を持つヒトであっても発症することなく日常生活を送ることができる。

前記の第二の目的を達成するためになされた本発明の抗アレルゲン羽毛は、前記の金属フタロシアニンの誘導体が羽毛に担持されていることを特徴とする。

これに用いられる前記式 (I I) で示される金属フタロシアニンの誘導体は、式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ および $R^4$ が、 $SO_3H$ 基であり、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$ および $n_4$ が、1であることが好ましい。同じく式中、 $M$ がCoまたはFeであることが好ましい。

抗アレルゲン羽毛は、前記金属フタロシアニンの誘導体が前記式 (I I) で示される化合物のナトリウム塩または銅 (I I) 塩であることを特徴とする。

抗アレルゲン羽毛は、前記金属フタロシアニンの誘導体の担持量が、前記羽毛の重量に対して、0.1質量%以上10質量%以下であることを特徴とする。

同じく本発明の組成物は、前記の抗アレルギー羽毛を、含んでいることを特徴とする。

同じく本発明の羽毛製品は、前記の抗アレルギー羽毛を、含んでいることを特徴とする。

- 5      この抗アレルギー羽毛、それを含んでいる組成物や羽毛製品は、防ダニ剤で処理されておらず、かつ、ダニ自体のみならず、ダニの死骸や排泄物等のダニ由来のアレルギーを吸着する効果を有する。従って、ダニ由来のアレルギーを除去することが可能である。

10    図面の簡単な説明

図1は、実験調製例1および比較調製例1の試験溶液の二次元電気泳動ゲルを撮影した写真である。

図2は、実験調製例2および比較調製例2の試験溶液の二次元電気泳動ゲルを撮影した写真である。

- 15    図3は、実験調製例3および比較調製例3の試験溶液の二次元電気泳動ゲルを撮影した写真である。

図4は、実験調製例4および比較調製例4の試験溶液の二次元電気泳動ゲルを撮影した写真である。

20    発明を実施するための最良の形態

以下に、実施例を用いて本発明を更に具体的に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

先ず、本発明を適用するアレルギーの分解剤、およびアレルギーの分解方法について説明する。

- 25    本発明のアレルギーの分解剤は、前記式（I）で示される金属フタロシアニンの誘導体を有効成分に含み、Mは前記した金属から選択される



ものであるが、なかでもFe、CoまたはCuが好ましい。最も好ましいものは、鉄フタロシアニンテトラカルボン酸である。

化学式 (I I) の金属フタロシアニン化合物またはその塩は、市販のものであってもよく、公知の方法により製造したものであってもよい。例えば、「フタロシアニン — 化学と機能 —」(白井汪芳、小林長夫著、株式会社アイピーシー出版、平成9年2月28日発行) に記載の方法により、製造することができる。例えば、鉄フタロシアニンテトラカルボン酸は、以下のようにして得ることができる。ニトロベンゼンにトリメリット酸無水物と、尿素と、モリブデン酸アンモニウムと、塩化第二鉄無水物とを加えて攪拌し、加熱還流させて沈殿物を得る。得られた沈殿物にアルカリを加えて加水分解し、次いで酸を加えて酸性にすることで得られる。コバルトフタロシアニンオクタカルボン酸は、上記鉄フタロシアニンテトラカルボン酸の原料であるトリメリット酸無水物に代えてピロメリット酸無水物、塩化第二鉄無水物に代えて塩化第二コバルトを用いて同様の方法で製造可能である。

金属フタロシアニンの誘導体は、有機物、無機物の担体に担持または混合してアレルゲンの分解剤とすることが好ましい。有機物の担体としては繊維が特に好ましい。繊維は、嵩量があり大きな表面積を持つため、金属フタロシアニン或いはその誘導体が効率よく空気中のアレルゲンに接触する。

繊維素材は、例えばセルロース系繊維(木綿、麻、レーヨンなど)、蛋白質系繊維(羊毛、絹など)、ポリアミド系繊維、ポリエステル系繊維、ポリアクリル系繊維、ポバール系繊維、ポリ塩化ビニル系繊維、ポリ塩化ビニリデン系繊維、ポリオレフィン系繊維、ポリウレタン系繊維などあらゆる天然繊維、再生繊維、半合成繊維、合成繊維が使用される。なかでもセルロース系繊維、特に木綿は、吸水性が良いため、

吸水した培地として酵素様機能を発現するための好条件をそなえている。

アレルギーの分解剤を担持した繊維は、衣類や布団としてアレルギー体質を持つヒトの身体をアレルギーから隔離しつつアレルギーを分解し、カーテンとして屋外から進入するアレルギーを遮断しつつ分解し、壁紙やカーペットとして浮遊或いは落ちているアレルギーを分解し、エアークリスタとして通過するアレルギーを分解する。

以下、実施例 1 により本発明のアレルギーの分解剤および分解方法を更に具体的に説明する。

#### 10 (実施例 1)

本発明のアレルギー分解剤の有効性を確かめるため、金属フタロシアニンの誘導体として鉄フタロシアニンテトラカルボン酸につき、試験管実験による薬効の確認と動物実験、その他の実験による安全性の確認をおこなった。

#### 15 (薬効の確認)

アレルギーとしてダニ抗原 D e r f I I (アサヒビール株式会社製)を選び、このダニアレルギーを鉄フタロシアニンテトラカルボン酸と混合した場合の電気泳動と、アレルギーのみの電気泳動を比較した。

##### 1. 溶液の調製

20 各実験調製例の所定濃度 (w/v%) の鉄フタロシアニンテトラカルボン酸カリウム (F e - P c - C O O K) 水溶液および D e r f I I 溶液と、I P G (I m m o b i l i z e d p H G r a d i e n t : 固定化 pH 勾配) バッファーを含んだ膨潤用ストック溶液 (U r e a 8 m o l / L 、 C H A P S 2 w / v % 、 I P G B u f f e r 2 % 、  
25 B r o m o p h e n o l b l u e 適量、蒸留水) との混合溶液を調製し、表 4 の実験調製例 1 ~ 4 の試験溶液とした。

一方、D e r f I I 溶液と I P G バッファーを含んだ膨潤用ストック溶液との混合溶液を調製し、表 4 の比較調製例 1 ～ 4 の試験溶液とした。

## 2. 一次元電気泳動

一次元電気泳動用ゲルのフィルム（以下 S t r i p という）を 2 種類、  
5 S t r i p p H 4 ～ 7 および S t r i p p H 3 ～ 10.5 を用意し、各試験溶液に浸漬して乾燥防止のシリコンオイルを適量添加し、10 時間静置した。試験溶液から各 S t r i p を取り出して水洗し、一次元電気泳動装置にセットし、乾燥防止のシリコンオイルを添加し、一次元電気泳動を 16 時間行った。

10 S t r i p p H 4 ～ 7 の一次元電気泳動プログラムは表 1 のとおりである。

表 1

P h a s e	電圧 V	電流 m A	W	時間 h r	V · h r
1	300	1	5	0 : 01	1
2	300	1	5	4 : 00	1200
3	3500	1	5	5 : 00	9500
4	3500	1	5	7 : 00	24500
T o t a l				16 : 01	35201

15 S t r i p p H 3 ～ 10.5 の一次元電気泳動プログラムは表 2 のとおりである。

表 2

Phase	電圧 V	電流 mA	W	時間 hr	V · hr
1	300	1	5	0:01	1
2	300	1	5	3:00	900
3	2000	1	5	5:00	5750
4	2000	1	5	8:00	16000
Total				16:01	22651

3. 二次元電気泳動（1次元電気泳動のStripが異なっても操作は同様）

- 5 一次元電気泳動の終了したStripを泳動装置より取り出し水洗した。SDS (sodium dodecyl sulfate: ドデシル硫酸ナトリウム) 平衡化用バッファー (1.5 mol/L pH 8.8 Tris-Cl 50 mmol/L、Urea 6 mol/L、87 v/v% Glycerol 30 v/v%、SDS 2 v/v%、
- 10 Bromophenol blue 適量、蒸留水) に DTT (dithiothreitol: ジチオトレイトール) 100 mg/10 mL を加えた溶液 10 mL に Strip を浸漬し 10 分間浸透させた。Strip を取り出し、SDS 平衡化用バッファーに iodoacetamide (250 mg/10 mL) を加えた溶液 10 mL に浸漬し 10
- 15 分間浸透させた。Strip を取り出して水洗しふき取った後、二次元電気泳動ゲル、ろ紙、電極ゲル、分子量マーカーをセットした二次元電気泳動装置に取り付け、1時間40分電気泳動を行った。

二次元電気泳動プログラムは表3のとおりである。

表 3

Phase	電圧 V	電流 mA	W	時間 min
1	600	20	30	25-30
2	600	50	30	5
3	600	50	30	70

## 4. 染色、撮影

資料の作成には、Amersham Biosciences 製の Silver Staining Kit, Protein を使用した。

固定用溶液（エタノール 100 mL, 酢酸 25 mL, 蒸留水で 250 mL にメスアップ）に二次元電気泳動ゲルを浸漬し 30 分間浸透させた。増感用溶液（エタノール 75 mL、25 w/v % グルタルアルデヒド 1.25 mL、5 w/v % チオ硫酸ナトリウム 10 mL、酢酸ナトリウム 17 g、蒸留水で 250 mL にメスアップ）に二次元電気泳動ゲルを浸漬し 30 分間浸透させた。蒸留水 250 mL に二次元電気泳動ゲルを浸漬し 5 分間浸透させる洗浄を 3 回繰返した。銀反応用溶液（2.5 w/v % 酢酸銀溶液 25 mL, 37 w/v % ホルムアルデヒド 0.1 mL, 蒸留水で 250 mL にメスアップ）に二次元電気泳動ゲルを浸漬し 20 分間浸透させた。蒸留水 250 mL に二次元電気泳動ゲルを浸漬し 30 分間浸透させる洗浄を 2 回繰返した。現像用溶液（炭酸ナトリウム 6.25 g, 37 w/v % ホルムアルデヒド 0.05 mL, 蒸留水で 250 mL にメスアップ）に二次元電気泳動ゲルを浸漬し 2~5 分間浸透させた。停止用溶液（EDTA-Na<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O 3.65 g, 蒸留水で 250 mL にメスアップ）に二次元電気泳動ゲルを浸漬し 10 分間浸透させた。蒸留水 250 mL に二次元電気泳動ゲルを浸漬し 5 分間浸透させる洗浄を 3 回繰返した。

このようにして銀染色した二次元電気泳動ゲルを、A T T O 社製 P r i n t g r a p h - 1 電気泳動撮影装置にて撮影した。

各実験調製例の鉄フタロシアニンテトラカルボン酸カリウム水溶液の濃度とともに、一次元電気泳動の S t r i p p H、二次元電気泳動  
5 のゲル勾配（ゲル中に含まれるポリアクリルアミドの濃度の勾配）、撮影した二次元電気泳動ゲルの写真が掲載されている図の番号を表 4 に示してある。

表 4

	試料溶液	一次元電気泳動 Strip p H	二次元電気泳動 ゲル勾配	二次元電気泳動 ゲル写真
実験 調製例 1	DerfII 溶液 20 $\mu$ L+ 0.5w/v%Fe-Pc-COOK 20 $\mu$ L	3 ~ 1 0	8 ~ 1 8	図 1 の A
比較 調製例 1	DerfII 溶液 20 $\mu$ L	3 ~ 1 0	8 ~ 1 8	図 1 の B
実験 調製例 2	DerfII 溶液 20 $\mu$ L+ 0.5w/v%Fe-Pc-COOK 20 $\mu$ L	4 ~ 7	8 ~ 1 8	図 2 の A
比較 調製例 2	DerfII 溶液 20 $\mu$ L	4 ~ 7	8 ~ 1 8	図 2 の B
実験 調製例 3	DerfII 溶液 30 $\mu$ L+ 0.1w/v%Fe-Pc-COOK 30 $\mu$ L	4 ~ 7	8 ~ 1 8	図 3 の A
比較 調製例 3	DerfII 溶液 30 $\mu$ L	4 ~ 7	8 ~ 1 8	図 3 の B
実験 調製例 4	DerfII 溶液 70 $\mu$ L+ 0.1w/v%Fe-Pc-COOK 30 $\mu$ L	4 ~ 7	8 ~ 1 8	図 4 の A
比較 調製例 4	DerfII 溶液 70 $\mu$ L	4 ~ 7	8 ~ 1 8	図 4 の B

10

図 1、図 2、図 3、図 4 の各写真で中央のスポット列は分子量マーカーで、分子量の目安となる。図 1、図 2、図 3 の写真における分子量マーカーのスポットは、下から順に 1 4 . 4、2 0 . 1、3 0、4 5、6

6、97 KDa (K i r o D a l t o n) の分子量である。図4の写真における分子量マーカーのスポットは、下から順に3.5、6.5、14.3、20.1、30、45 KDa の分子量である。各写真の中央のスポット列で分けられるA、Bの各横軸は一次元電気泳動の S t r i p  
5 p Hである。

各写真のAにおけるスポットは鉄フタロシアニンテトラカルボン酸カリウムおよびダニアレルゲンを混合したもの、Bにおけるスポットはダニアレルゲンだけである。鉄フタロシアニンテトラカルボン酸カリウムによりダニアレルゲンの変化が無ければ、AとBにおけるスポットは  
10 同様となるが、写真からAではpH 5～6付近のスポットが消失しており鉄フタロシアニンテトラカルボン酸カリウムによりダニアレルゲンが変化していることが分かる。

(安全性の確認)

本発明のアレルゲンの分解剤が、安全に使用できることを実証するために、鉄フタロシアニンテトラカルボン酸について以下の実験を行った。  
15

#### 1. ウサギに対する皮膚一次刺激性試験

鉄フタロシアニンテトラカルボン酸を1重量%含有するニット生地を、アレルゲン分解の機能性繊維の試料とした。

投与前日に健康で無傷な皮膚を有する17週齢日本白色種雄性ウサギ (K b 1 : J W ( S P F )) 6例を選択し、その背部を除毛し、4ヵ所の投与区分 (1区分: 2.5 × 2.5 cm) を設定した。そのうち2ヵ所は正常皮膚、他の2ヵ所はシェーバーで軽く剃毛してからセロファンテープでストリッピングして損傷皮膚とした。正常皮膚と損傷皮膚の各1ヵ所に注射用水で湿らせた機能性繊維を貼付し、ガーゼを被せてから  
20 テーピングテープで固定した。他方は無処置部位とし、ガーゼとテーピングテープの貼付を同様に行った。さらに布製カバー及びチューブ型  
25

ネット包帯を用いて被覆固定した。24時間後に機能性繊維、ガーゼ及びテーピングテープを除去し、投与部位を微温湯にて清拭した。

投与前、被験物質除去後1、24、48及び72時間に肉眼的判定を行った。判定はD r a i z eの判定基準（A p p e n d i x 3）に準拠して、紅斑（痂皮形成）及び浮腫についてそれぞれ評価した。正常皮膚と損傷皮膚に分けて、各観察時点に紅斑（痂皮形成）、浮腫及びそれらの合計評点（T S）について平均値と標準偏差を算出した。また、I S O 1 0 9 9 3 - 1 0の評価基準（A p p e n d i x 3）に準じて、正常皮膚と損傷皮膚について各々24、48及び72時間の評価により一次刺激指数（紅斑（痂皮形成）と浮腫の合計評点の平均値、P I I）を算出し、得られた一次刺激指数から被験物質の刺激性の強度を判定した。

その結果、機能性繊維投与部位では、正常皮膚および損傷皮膚ともに全観察期間を通じて刺激性反応は全く認められなかった。機能性繊維のP I Iは正常皮膚及び損傷皮膚ともに0.0であり、刺激性への強度は「N e g l i g i b l e」と判定され、機能性繊維の皮膚に対する安全性に問題はないと考えられる。

## 2. ウサギに対する皮膚累積刺激性試験

前記同一のアレルゲン分解の機能性繊維を試料とし、同様にウサギの損傷皮膚とした。正常皮膚と損傷皮膚の各1ヵ所に注射用水で湿らせた機能性繊維を貼付し、ガーゼを被せてからテーピングテープで固定した。他の各1ヵ所は無処置部位とし、ガーゼとテーピングテープの貼付を同様に行った。さらに布製カバー及びチューブ型ネット包帯を用いて被覆固定した。23時間後に機能性繊維、ガーゼ及びテーピングテープを除去し、投与部位を微温湯にて清拭した。投与期間は21日間とし、毎日除去後1時間に刺激性を肉眼的に評価した。判定はD r a i z eの判定基準に準拠して、紅斑（痂皮形成）及び浮腫についてそれぞれ評価し



- た。正常皮膚と損傷皮膚に分けて、各観察時点ごとに紅斑（痂皮形成）、浮腫及びそれらの合計評点（TS）について平均値と標準偏差を算出した。投与期間終了後に動物をペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血致死させ、各投与部位皮膚を10%中性緩衝ホルマリン液で固定後、
- 5 HE染色を施し病理組織学的検査を行った。

その結果、機能性繊維投与部位では、正常皮膚および損傷皮膚ともに全観察期間を通じて刺激性反応は全く認められなかった。病理組織学的検査においても変化はみられなかった。以上の結果より、機能性繊維の皮膚に対する安全性に問題はないと考えられる。

10 3. ウサギに対する眼粘膜刺激性試験

- 10週齢の日本白色種雄性ウサギ各3匹からなる非洗浄群及び洗浄群の2群を設定した。ウサギは7日間の予備飼育の後、体重推移及び一般状態に異常のないことを確認した。また、投与前日に両眼について肉眼的に異常のないこと、フルオレセイン染色（フルオル試験紙、ロット
- 15 番号3990849、ワイス・アイアースト ラボラトリーズ、アメリカ）を施し、スリットランプ（SL-5型、興和（株））を用いて角膜に損傷のないことを確認して試験に供した。

- 各ウサギの右眼結膜嚢内に被験物質である鉄フタロシアニンテトラカルボン酸の粉末であって300 $\mu$ mのメッシュを1回通したもの1
- 20 00mgを入れ、約1秒間上下眼瞼を穏やかに合わせて保持した。洗浄群で投与の30秒後に微温湯230～330mLを用いて結膜嚢内を洗浄し、被験物質を除去した。左眼は非洗浄群、洗浄群とも無処置とした。投与後1, 24, 48及び72時間に角膜、虹彩及び結膜を無処置対照眼と比較しながら観察した。なお、非洗浄群では投与後72時間
- 25 においても刺激性反応が認められたため、21日目まで観察期間を延長した。認められた所見はD r a i z e（A p p e n d i x 3）の評価基準

に従って判定し、Kay and Calandra (Appendix 4) の分類方法に従い刺激性を評価した。

非洗浄群では、全例に明らかな刺激性反応が発現し、角膜の混濁と表面粗造化、虹彩のうっ血、結膜の発赤、浮腫、分泌物等が認められた。

- 5 その他、被験物質による角膜と虹彩の着色（緑色）が認められた。これらの反応は投与後 24 時間に最も強く発現した。その後は徐々に回復し、角膜と虹彩の反応が投与後 72 時間までに、結膜の反応が 10 日目までに消失した。なお、虹彩の着色のみは投与後 21 日目まで継続して認められた。眼粘膜刺激性の評価は Moderately irritating
- 10 ing であった。

- 洗浄群では、投与後 1 時間に全例の結膜に軽い発赤が認められたが、いずれも投与後 24 時間には消失した。角膜と虹彩には変化が認められなかった。眼粘膜刺激性の評価は Practically nonirritating であった。鉄フタロシアニンテトラカルボン酸はウサギ
- 15 の眼粘膜に対して Moderately irritating (M<sub>3</sub>) の刺激性を有するが、生じた刺激性反応は回復性があり、洗浄により Practically nonirritating (P) まで軽減されることが確認された。

#### 4. ラットに対する抽出液の静脈投与

- 20 塩化ナトリウム 844 mg、塩化カリウム 1200 mg、塩化カルシウム 146 mg、塩化マグネシウム 52 mg、リン酸二カリウム 342 mg、精製水 1000 mL で調製した生理食塩液に、被験物質である機能性繊維を 0.2 g / 1 mL の割合で浸し、オートクレーブ内で 121 ± 2 °C で 1 時間抽出した後、20 ~ 30 °C に冷却し室温で保存し 24 時
- 25 間以内に使用した。

機能性繊維の生理食塩液抽出物の 20 mL / kg (抽出に用いた機能

性繊維換算で  $4 \text{ g} / \text{kg}$  ) を 6 週齢の C r j : C D ( S D ) I G S ( S P F ) ラット雌雄 26 匹に 28 日間反復静脈内投与した時の毒性を検討した。対照群には生理食塩液を投与した。その結果、死亡は認められなかった。

- 5 一般状態、体重推移、摂餌量推移、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査では、機能性繊維生理食塩液抽出物投与の影響を示唆する変化は認められなかった。尿検査、血液学的検査、血液化学的検査及び器官重量では、対照群と比較し機能性繊維生理食塩液抽出物投与群に有意差を示した項目が散見されたが、バックグラウンドデータの範囲内の変動で
- 10 あることやその差を示唆する他の検査項目の変化を伴わないことなどから、いずれも毒性とは無関係な偶発的变化と考えられる。

以上のことから、機能性繊維生理食塩液抽出物は極めて毒性が低いと考えられ、今回の試験条件下における毒性学的な無毒性量は雌雄とも  $20 \text{ mL} / \text{kg}$  (抽出に用いた機能性繊維換算で  $4 \text{ g} / \text{kg}$  ) を超えるもの

15 と推察された。

#### 5. ラットに対する抽出液の単回経口投与毒性試験

5 週齢の C r j : C D ( S D ) I G S ( S P F ) ラット雌雄各 26 匹を 1 週間予備検疫飼育し、異常は認められなかったことから全数を試験に供した。予備飼育前に測定した体重を基準として層物連続無作為化法

20 により各群に割り付けた。群に割り付けられなかった余剰動物は群分けした。投与時の週齢は雌雄とも 6 週齢、体重は雄が  $178 \sim 197 \text{ g}$  、雌が  $122 \sim 142 \text{ g}$  であった。

塩化ナトリウム  $844 \text{ mg}$  、塩化カリウム  $1200 \text{ mg}$  、塩化カルシウム  $146 \text{ mg}$  、塩化マグネシウム  $52 \text{ mg}$  、リン酸二カリウム  $342$

25  $\text{mg}$  、精製水  $1000 \text{ mL}$  で調製した人工唾液に、被験物質である機能性繊維を  $0.2 \text{ g} / 1 \text{ mL}$  の割合で浸し、オートクレーブ内で  $121 \pm$

2℃で1時間抽出した。後20～30℃に冷却し室温で保存し24時間以内に投与した。

投与量は投与直前の体重を基準にして体重1kgにつき抽出液を50mLとした。抽出液50mLは抽出した繊維に換算すると10gに相当する。投与回数は1回とした。投与前日の夕方より18時間以上絶食させた後、9:00～13:30の間にディスポーザブルシリンジ及び経口ゾンデを用いて強制経口投与した。観察期間は投与後14日間とした。

投与前及び投与後5、15、30分、1、2、4時間まで継続的に観察した。投与翌日からは毎日1回観察した。投与前及び投与後1、3、7、10、14日の9:00～12:00に体重測定した。観察期間終了時に、全例の頭部及び胸腹部の器官・組織を観察し異常の有無を確認した。

その結果、人工唾液抽出物投与群及び対照群の雌雄に死亡はみられなかった。投与後の一般状態観察では、人工唾液抽出物投与群及び対照群の雌雄には異常は認められなかった。人工唾液抽出物投与群の雌雄とも順調に体重増加し、対照群とほぼ同様の推移を示した。人工唾液抽出物投与群及び対照群の雌雄に病理解剖学的異常は認められなかった。

以上のことから、致死量は、機能性繊維に換算して10g/kg以上と推察された。

#### 6. ラットに対する原体溶解液の単回経口投与毒性試験

5週齢のCrj:CD(SD)IGS(SPF)ラット雌雄各26匹を1週間検疫飼育し、異常が認められなかったことから全数を試験に供した。検疫飼育の直前に測定した体重を基準として層物連続無作為化法により各群に割り付けた。群に割り付けられなかった余剰動物は群分け実施日に試験から除外し、安楽死させ処分した。投与時の週齢は雌雄と

も6週齢、体重は雄が172～186g、雌が130～151gであった。

投与直前に被験物質である鉄フタロシアニンテトラカルボン酸を必要量秤量し、1規定の水酸化ナトリウムでpHを10.2に調製した精製水に溶解させた。溶解後に1規定の塩酸を用いてpHを7.11に調製した後、鉄フタロシアニンテトラカルボン酸の最終濃度が100mg/mLになるように精製水でメスアップして投与液を調製した。医薬品毒性試験ガイドラインに準拠し、技術的に投与可能な最大用量として経口投与の場合の上限である2000mg/kgを被験物質の投与用量に設定した。その他、対照物質（日本薬局方精製水）を投与する対照群を設定し、試験群を計2群とした。各群には雌雄各10匹を割り付けた。

投与液量は20mL/kgとし、投与日における投与直前の体重を基準に個別に算出した。投与回数は1回とした。投与直前の夕方より18時間以上断食させた後、ディスポーザブルシリンジ（テルモ（株））及び経口ゾンデ（フチガミ器械店、ディスポーザブル経口ゾンデ）を用いて強制経口投与し、14日間観察した。一般状態及び生死の観察は、投与前及び投与後5、15、30分、1、2、4時間まで継続的に観察した。投与翌日からは毎日1回観察した。体重測定は、投与前及び投与後1、3、7、10、14日の9:00～12:00に測定した。観察期間終了時に、全例の頭部及び胸腹部の器官・組織を観察し異常の有無を確認した。

その結果、被験物質投与群及び対照群の雌雄に死亡はみられなかった。投与後の一般状態観察では、被験物質投与群の雌雄全例に投与日の投与後2時間以降で液状緑色便がみられ、投与後1～3日には緑色便が認められた。被験物質は濃緑色粉体で、便の緑色はこの固有色を反映したものである。対照群の雌雄には異常は認められなかった。被験物質投与群

の雌雄とも順調に体重増加し、対照群とほぼ同様の推移を示した。また液状便は被験物質の大量投与による一過性の下痢症状と考えられ、いずれも毒性を示唆する所見とは考えられない。

観察期間中の死亡率から計数処理して概略の致死量を求めたところ

- 5 鉄フタロシアニンテトラカルボン酸の本試験条件下における概略の最小致死量は2000mg/kg以上と推察された。

#### 7. モルモットに対する皮膚感作性試験

- 5週齢の雄性Crj; Hartley系モルモットを媒体対照群、被  
験物質感作群に分け、Maximization法により機能性繊維の  
10 皮膚感作性について試験した。被験物質として細切した機能性繊維に10倍量のメタノールを加えて室温にて抽出した後、メタノールを留去し、機能性繊維151.88gから5.482gの抽出物が得られた。

- 媒体対照群においては、媒体対照であるジメチルスルホキシドを10%の濃度で皮内感作し、ジメチルスルホキシドで経皮感作した後、1  
15 0%、1%及び0.1%機能性繊維メタノール抽出物並びにジメチルスルホキシドで惹起した。その結果、いずれの惹起部位においても皮膚反応はみられなかった。

- 被験物質感作群においては、機能性繊維メタノール抽出物を10%の濃度で感作した後、10%、1%及び0.1%機能性繊維メタノール抽出物並びに媒体対照で惹起した。その結果、10%メタノール抽出物惹起部位に皮膚反応が散見され、同惹起部位における平均評価点及び陽性率は惹起後24時間で0.7及び10%、48時間で1.4及び40%であった。1%機能性繊維メタノール抽出物惹起部位においては評価点1の紅斑が散見されたが、陽性例はみられなかった。0.1%機能性繊維メタノール抽出物及び媒体対照惹起部位には皮膚反応はみられな  
25 かった。惹起後48時間における陽性率より、機能性繊維メタノール抽出

物は10%の濃度での惹起により中等度（Grade III）の皮膚感作性をもつと評価された。

陽性対照群においては、2,4-ジニトロクロロベンゼン（DNCB）を0.1%の濃度で感作した後、0.1% DNCB及びアセトンで惹起した。その結果、全例のDNCB惹起部位に皮膚反応がみられ、惹起後48時間における陽性率は100%で、DNCBは激しい（Grade V）皮膚感作性をもつと評価された。

各感作物質をアジュバントを併用して皮内投与し、7日後に各感作物質を48時間閉塞貼付して経皮感作した。皮内投与後21日に各惹起物質を24時間皮膚に閉塞貼付して惹起し、除去後24及び48時間に皮膚反応を判定した。皮膚反応の判定基準は、紅斑及び痂皮について、紅斑なし0、わずかな紅斑1、明らかな紅斑2、中等度の紅斑3、強紅斑に痂皮が認められる4、である。浮腫について、浮腫なし0、わずかな浮腫1、中等度の浮腫2、強い浮腫3、である。

15 以上より、機能性繊維メタノール抽出物はモルモットに対して皮膚感作性をもつものと考えられ、最低惹起濃度は10%と考えられた。また、10%の濃度の惹起での感作性の強さは中等度（Grade III）と評定された。

#### 8. モルモットに対する皮膚光感作性試験

20 7の皮膚感作性試験に使用した機能性繊維メタノール抽出物について、5週齢の雄性Crj: Hartley系モルモットを用い、Adjuvant and Strip法により皮膚光感作性試験をした。各投与物質0.1mLを除毛したモルモット背部に開放塗布し、30分後より約10.2 Joules/cm<sup>2</sup>の紫外線を照射した。同様の処置を5日間連続して行い、光感作した。最終感光感作後17日に各投与物質0.1mLを除毛した背部皮膚の左右対称に開放塗布し、動物の右半

分をアルミホイルで被覆して約  $10.2 \text{ Joules/cm}^2$  の紫外線を照射して光惹起した。光惹起後 24 時間及び 48 時間に皮膚反応を判定した。

被験物質光感作群については、機能性繊維のメタノール抽出物を 10 % の濃度でジメチルスルホキシドに溶解して感作し、1 % の濃度で惹起した。その結果、評点 1 の紅斑が散見されたが陽性例はみられず、全例が陰性と判定された。媒体対照群については、ジメチルスルホキシドで感作及び惹起した。その結果、いずれの惹起部位にも皮膚反応はみられなかった。陽性対照群については、6-メチルクマリン (6-MC) を 5 % の濃度で感作し、1 % の濃度で惹起した。その結果、6-MC 惹起部位の紫外線照射部位に評点 2 ~ 4 の紅斑がみられ、全例が陽性と判定された。

以上より、機能性繊維のメタノール抽出物はモルモットに対し皮膚光感作性をもたないものと考えられた。

#### 15 9. モルモットに対する光毒性試験

7 の皮膚感作性試験に使用した機能性繊維メタノール抽出物について、5 週齢の雄性 Crj : Htl ey 系モルモットに対し、Morikawa らの方法により光毒性試験をした。被験物質投与群については 10 % の濃度でジメチルスルホキシドに溶解した機能性繊維のメタノール抽出物を、媒体対照群についてはジメチルスルホキシドを、陽性対照群については 0.05 % 8-methoxypsoralen を、それぞれ投与物質として、除毛したモルモットの背部に各投与物質 0.03 mL を開放塗布した。開放塗布後 30 分に約  $11.2 \text{ Joules/cm}^2$  の紫外線を照射した。照射後 24 及び 48 時間に皮膚反応を判定した。

その結果、被験物質投与群及び媒体対照群においては、紫外線照射部



位と非照射部位いずれにおいても皮膚反応はみられず、全例が陰性と判定された。一方、陽性対照群においては、全例の紫外線照射部位において評点4の皮膚反応がみられた。

以上より、機能性繊維メタノール抽出物はモルモットに対し光毒性をもたないものと考えられた。

#### 10. 細菌を用いる突然変異誘発能試験

ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を使用して、機能性繊維のメタノール抽出物の突然変異誘発能の有無を検索した。メタノール抽出物は、細切した機能性繊維に10倍量のメタノールを加え、室温で24時間攪拌して抽出し、ロータリーエバポレーターでメタノールを除去した残留物である。

その結果、本被験物質処理による復帰変異コロニー数は、代謝活性化の有無にかかわらず塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても陰性対照と比較して2倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。従って、機能性繊維のメタノール抽出物は、本試験条件下において突然変異誘発能を有しないと判断する。

#### 11. ほ乳類細胞を用いる染色体異常試験

機能性繊維のメタノール抽出物の染色体異常誘発性の有無を検索した。DMSOを媒体として試験を実施した。細胞増殖抑制試験における被験物質の最高試験用量は、5.0 mg/mLとした。細胞増殖抑制試験の結果、50%細胞増殖抑制濃度は、短時間処理の代謝活性化系非存在下(以下-S9 mix法と略す)で、5.0 mg/mL以上となった。また、短時間処理代謝活性化系存在下(以下+S9 mix法と略す)で、0.840 mg/mLとなった。被験物質の沈澱が、0.313 mg/

m L以上で認められた。したがって、染色体異常試験の試験用量は、－S 9 m i x法の最高試験用量を0. 3 1 3 m g / m Lとし、公比2で希釈した3用量を設定した。また、＋S 9 m i x法の最高試験用量を1. 2 5 m g / m Lとし、公比2で希釈した4用量を設定した。

- 5 短時間処理法の結果、－S 9 m i x法における染色体の構造異常を有する細胞及び倍数性細胞の出現頻度は、いずれの試験用量においても5 %以下となった。しかしながら、＋S 9 m i x法では染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度が0. 3 1 3 m g / m L以上で用量依存性のある増加を示し、陽性となった。なお、短時間処理法の結果、陽性と判断したため連続処理法は実施しなかった。

- 10 各処理法における陽性対照群では、染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度が適正な値を示したことから試験は適切に実施されたものと判断した。以上の結果から、当該被験物質にはチャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞（C H L / I U細胞）に対する染色体異常誘発性があるものと判断した。

- 細胞増殖抑制試験は以下のとおりである。短時間処理法その1；－S 9 m i x法は、直径6 0 m mのプラスチック・シャーレ1枚あたり $2 \times 10^4$ 個の細胞（培養液5. 0 m L）を播種し、3日間培養した。被験物質の最高試験用量は5. 0 m g / m Lとし、最高試験用量から公比2  
20 で希釈した計10用量（0. 0 1 0、0. 0 2 0、0. 0 3 9、0. 0 7 8、0. 1 5 6、0. 3 1 3、0. 6 2 5、1. 2 5、2. 5及び5. 0 m g / m L）を設定した。陰性対照として媒体（D M S O）対照群を設けた。用量当たり1枚のシャーレに媒体または各試験用量用の被験液を5 0  $\mu$  L加え、3 7  $^{\circ}$  Cで6時間作用させた。作用後、シャーレの培養  
25 液を取り除き、生理食塩水で細胞を洗浄後、新しい培養液5 m Lを加えた。さらに、1 8時間培養を続けた。培養後、シャーレの培養液を除き、

生理食塩水で細胞表面を洗浄後、10%ホルマリン溶液で固定した。固定後、0.1%クリスタルバイオレット溶液で染色した。細胞の染色の濃淡から単層培養細胞密度計（モノセレータ、オリンパス光学工業（株））を用いて細胞増殖率を測定した。この際、媒体対照細胞の値を  
5 100%とした。これより被験物質の50%細胞増殖抑制濃度（概略値）を求めた。

短時間処理方法その2；+S9mix法は、-S9mix法と同様に細胞を播種し、3日間培養した。用量当たりのシャーレ枚数及び被験物質の用量は、-S9mix法と同条件とした。シャーレから0.83m  
10 Lの培養液をぬきとり、0.83mLのS9mixを加え、S9mix希釈液（S9の最終濃度5%）とした。シャーレに媒体または各試験用量用の被験液を50 $\mu$ L加え、37℃で6時間作用させた。作用後の操作は、-S9mix法と同様とした。

染色体異常試験は以下のとおりである。被験物質の試験用量は、細胞  
15 増殖抑制試験を行って決定した。細胞増殖抑制試験の結果、50%細胞増殖抑制濃度は、短時間処理-S9mix法で、5.0mg/mL以上となった。また、短時間処理+S9mix法では、0.840mg/mLとなった。

被験物質の沈澱が、0.313mg/mL以上で認められた。

20 以上の結果から、染色体異常試験における短時間処理法の試験用量は以下の通りとした。-S9mix法：0.078、0.156及び0.313mg/mL（公比2、3使用）。+S9mix法：0.156、0.313、0.625及び1.25mg/mL（公比2、4使用）。細胞増殖抑制試験の結果、被験物質の最高試験用量は、0.313mg  
25 /mLとし、最高試験用量から公比2で希釈した計3用量を設定した。陰性対照として無処理及び媒体対照群を設け、陽性対照としてマイトマ

イシンC ( $0.05 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) 処理群を設けた。

その際、染色体標本用シャーレには細胞分裂を分裂中期で停止させるため、標本作製の2時間前にコルセミド (GIBCO/Lot No. 1125546) を最終濃度  $0.2 \mu\text{g}/\text{mL}$  になるように加えた。2  
5 時間後、各シャーレの培養液をスピッツ管に移した。直ちに、各シャーレに  $0.25\%$  トリプシン溶液  $2\text{mL}$  を加え、細胞を剥離後、前述のスピッツ管に回収し、遠心分離 ( $1000\text{rpm}$ 、5分) した。上清を捨て、 $0.075\text{M}$  塩化カリウム溶液を  $5\text{mL}$  加え、 $37^\circ\text{C}$  の恒温水槽中で15分間低張処理後、 $0.5\text{mL}$  の冷却固定液 (冷却メタノールと酢  
10 酸を3:1に混合したもの) を加え半固定した後、直ちに遠心分離 ( $1000\text{rpm}$ 、5分) し、新しい固定液  $5\text{mL}$  を加えた。同じ操作を3回繰り返し細胞を完全に固定した。固定した細胞を軽く濁る程度の細胞浮遊液に調製したあと、スライドグラスに滴下し、空気乾燥後、 $1.7\%$  のギムザ液で約15分間染色した。また、細胞増殖率用シャーレは前述  
15 の細胞増殖抑制試験と同様の方法で固定染色後、細胞増殖率を測定した。

顕微鏡下で、各処理群当たり200個 (シャーレ当たり100個) の良く拵がった分裂中期像を観察し、構造異常等の種類と異常を持つ細胞の数を記録した。同時に倍数性細胞の数も記録した (3媒体を含めた染色体数37本以上を倍数性として記録した)。なお、客観的な観察を行  
20 うため、盲検法により観察した。

染色体異常の種類は以下のようにして分類した。ただし、ギャップとは非染色部分が染色部分の縦軸上にあり、その幅が染色分体の幅以下で非染色部分の形状が明確なもの、切断とは非染色部分が染色分体の縦軸にある場合にはその幅が染色分体の幅以上で非染色部分の形状が明確  
25 なもの、または、染色体または染色分体の軸よりずれて断片が存在すること、交換とは染色体または染色分体の2カ所以上の切断による相互交

換と定義し、それ以外の構造異常はその他とした。

#### 構造異常

染色分体型切断 (c t b)

染色分体型交換 (四放射状交換など、c t e)

5 染色体型切断 (c s b)

染色体型交換 (ニ動原体、環状など、c s e)

その他 (断片化、f r g)

#### その他の染色体異常

ギャップ (g)

10 数的異常

倍数性 (p o l y p l o i d、e n d o r e d u p l i c a t i o n)

- 短時間処理の結果、- S 9 m i x 法における染色体の構造異常を有する細胞及び倍数性細胞の出現頻度は、いずれの試験用量においても5%以下となった。しかしながら、+ S 9 m i x 法では染色体の倍数性細胞の出現頻度は、いずれの試験用量においても5%以下となったが、染色
- 15 体の構造異常を有する細胞の出現頻度が0.313、0.625及び1.25 mg / mLでそれぞれ15.5、49.5及び73.0%と用量依存性のある増加を示した。被験物質の沈澱が、0.313 mg / mL以上で認められた。短時間処理法の- S 9 m i x 法陽性対照群 (MMC)
- 20 は、染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度が16.0%を示した。また、+ S 9 m i x 法陽性対照群 (DMN) では、染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度が37.5%を示したことから、試験は適切に実施されたものと判断した。なお、短時間処理の結果、陽性と判断したため連続処理法は実施しなかった。被験物質が構造異常を20%誘発する
- 25 試験用量 (D<sub>20</sub>値) は、+ S 9 m i x 法で0.35 mg / mLであった。

#### 12. 細胞毒性試験

被験物質である機能性繊維 8 g を、高圧蒸気滅菌 (121℃、20分) した。冷却、乾燥後、培地 80 mL を加えて軽く栓をした後、被験物質が培地中に十分に浸漬していることを確認して、炭酸ガスインキュベーター内に静置して24時間インキュベートした。ガラス瓶から培地のみ  
5      を取り出し、この培地を100%被験物質抽出液とした。培地を用いて100、80、70、50、30及び10%に希釈した。なお、上記の被験物質抽出液の濃度は、予備検討の結果から IC<sub>50</sub> 値を算出できる適切な範囲で6濃度設定した。

約 2 × 15 mm の機能性繊維標準材料及びブランク繊維の陰性材料を、  
10      それぞれガラス瓶に入れて高圧蒸気滅菌した。冷却、乾燥後、標準材料または陰性材料 1 g に対して培地を 10 mL ずつの割合で加えて軽く栓をした。炭酸ガスインキュベーター内に静置して24時間インキュベートした後、ガラス瓶から培地のみを取り出し、この培地をそれぞれ100%標準材料抽出液及び100%陰性材料抽出液とした。培地を用い  
15      て、標準材料 A は 80、30、10、0.5 及び 0.1%、標準材料 B は 90、80、70、50 及び 30% に希釈した。陰性材料については100%抽出液をそのまま使用した。

Eagle MEM 培地 (Eagle の平衡塩類含有、0.292 g / L    L-グルタミン含有、インビトロジェン社、Lot No. 1101728) に 0.11 g / L    ピルビン酸ナトリウム (和光純薬工業 (株)、Lot No. LDE0019)、2.2 g / L    炭酸水素ナトリウム (関東化学 (株)、Lot No. 106G1268)、0.1 mmol / L    MEM 非必須アミノ酸 (インビトロジェン社、Lot No. 1133557)、50 U / mL    ペニシリン (萬有製薬 (株)、Lot No. 7QB03P) 及び 50 µg / mL    ストレプトマイシン (明治製菓 (株)、Lot No. SSD468) を添加して牛胎児血  
25

清 (FBS、インビトロジェン社、Lot No. A0282282) 不含M05培地とした。FBS不含M05培地に5 v/v % FBSを添加してM05培地とした。

細胞培養は、炭酸ガスインキュベーターを用いて温度：37.0 ± 1.0 °C (実測温度：36.9 ~ 37.4 °C)、CO<sub>2</sub>濃度：5.0 ± 0.5 % (実測濃度：4.8 ~ 5.1 %)、加湿条件下で静置培養した。細胞密度がフラスコ底面積の約30 ~ 70 %の状態に達した。フラスコ内の培地を除去し、Ca<sup>2+</sup>及びMg<sup>2+</sup>不含のダルベッコリン酸塩緩衝液を用いて軽くリンスした。PBS (-) を吸引除去した後、細胞が浸る程度の少量の0.05 % トリプシン及び0.02 % EDTA・2Na (同仁化学(株)、Lot No. KC159) 含有PBS (-) (トリプシン/EDTA液) を添加し炭酸ガスインキュベーター内に静置した。顕微鏡下で観察し細胞がフラスコ底面からほぼ剥がれたことを確認した後、培地を加えて細胞を回収し、遠沈管に移して約80 rpmで2分間遠心した。上清を除去して新たに培地を加えて細胞をほぐし、細胞懸濁液とした。継代前の1/3 ~ 1/10の細胞密度になるように培地で希釈して、新たなフラスコに播種した。

継代方法に従って細胞を剥離し、細胞数が1000個/mLになるように培地を用いて希釈調製した細胞懸濁液を、予め培地を3 mL添加しておいた6ウェルプレートに0.1 mL/ウェルずつ添加し、炭酸ガスインキュベーター内で24時間培養した。培地を除去した後、各濃度の被験物質抽出液、標準材料A及び標準材料B並びに陰性材料(100%抽出液のみ)を3 mLずつ添加した。また培地のみを添加するウェルを4ウェル設け、コントロール群とした。1濃度につき4ウェルを使用した(n = 4)。各抽出液を添加した後、炭酸ガスインキュベーター内で7日間培養した後、各ウェルの培地を除去し、PBS (-) 3 mL/ウ

エルで洗浄した。各ウェルにメタノールを 3 mL 加えて 10 分間静置し細胞を固定した後、メタノールを除去し、リン酸緩衝液 (pH 6.4) で希釈した 5 % ギムザ溶液を 3 mL 加えて 10 分間静置し、コロニーを染色した。精製水で各ウェルを一回洗浄した後、乾燥させて、50 個以上の細胞から成ると判断されるコロニー数を、肉眼または実態顕微鏡にて計測した。

雄チャイニーズハムスター肺由来樹立株である V79 細胞を 100 個/ウェル (6 ウェルプレート) で 24 時間培養した後、被験物質 (機能性繊維) 並びに各対照物質 (標準材料 A : 0.1 % zinc diethyl dithiocarbamate (ZDEC) 含有ポリウレタンフィルム、標準材料 B : 0.25 % zinc dibutyl dithiocarbamate (ZDBC) 含有ポリウレタンフィルム及び陰性材料 : 高密度ポリエチレンフィルム) の抽出液を各 4 ウェルずつ添加して、7 日間培養した。形成されたコロニー数を計測し、培地のみで同様に培養した場合 (コントロール群) のコロニー数の半数となるときの抽出液濃度 ( $IC_{50}$  値) を算出した。コントロール群のコロニー形成能は 95 % であり、良好なコロニー形成能を示した。コントロール群と陰性材料の 100 % 抽出液添加ウェルのコロニー数に統計学的な有意な差は認められなかった。標準材料 A 及び標準材料 B の  $IC_{50}$  値は、それぞれ 1.32 % 及び 68.92 % であり、いずれも試験の成立基準を満たしていた。

機能性繊維抽出液を添加したウェルとコントロール群のコロニーの大きさを比較すると、高濃度 (70 % 以上) の抽出液ではコロニーが小さくなる傾向が認められ、細胞の増殖能に対する若干の影響が示唆された。しかし、機能性繊維抽出液のコロニー形成数においてはコントロール群と差異はなく、機能性繊維抽出液の  $IC_{50}$  値は 100 % 以上であり、



コロニー形成能への影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件において、機能性繊維抽出液のコロニー形成に対する阻害作用は認められないと判断した。

次に、本発明を適用する抗アレルギー羽毛、それを含む組成物・羽毛製品の好ましい実施例について説明する。

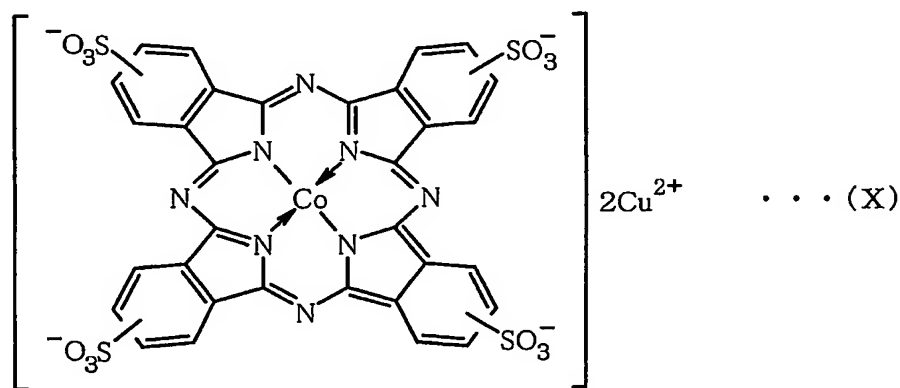
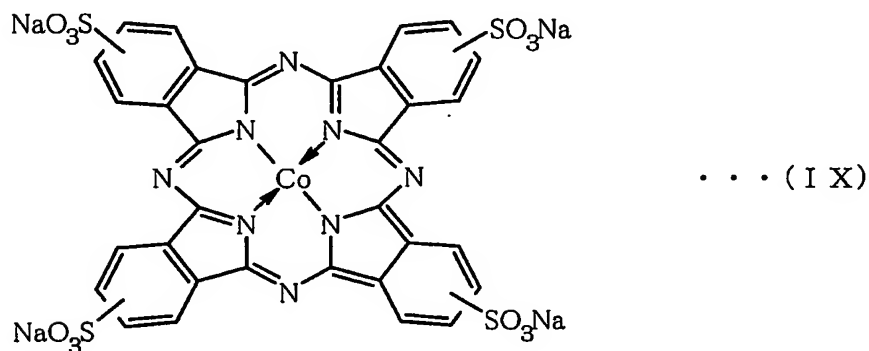
本発明は、前記の金属フタロシアニンの誘導体として前記式 (I I) で示される金属フタロシアニン化合物（以下、金属フタロシアニン化合物 (I I) と記載する）またはその塩が担持された抗アレルギー羽毛である。前記羽毛に担持される金属フタロシアニン化合物 (I I) またはその塩の量は、前記羽毛重量に対して、好ましくは 0.1 質量%以上 10 0 質量%以下であり、より好ましくは 0.3 質量%以上 5 質量%以下であり、さらに好ましくは 0.5 質量%以上 3 質量%以下である。金属フタロシアニン化合物 (I I) またはその塩の量が 0.1 質量%以上 10 質量%以下であれば、抗アレルギー羽毛のダニ由来のアレルギーを吸着 15 する効果に優れるからである。

前記抗アレルギー羽毛の素材としては、アヒル、鷺鳥、鴨、マガモ、ルーアングック、チャイニーズダック、ペキンダック、グース（ビルグリム・グース、エムデン・グース等）、ハイイロガン等から採取した羽毛が挙げられる。また、前記抗アレルギー羽毛の素材としては、フェザー 20 ー（ラージフェザー、翼の部分の羽軸を持つ羽毛）、ダウン（胸毛、綿毛）、スモールフェザー（小羽）等を用いることができる。

金属フタロシアニン化合物 (I I) の塩としては、例えば無機塩基との塩、有機塩基との塩等が挙げられる。無機塩基との塩の好適な例としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩；ならびに銅 (I I) 25 塩、アンモニウム塩などが挙げられる。有機塩基との塩の好適な例とし

ては、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン等との塩が挙げられる。

金属フタロシアニン化合物 (I I) またはその塩は、前記式 (I I) 中、MがCoまたはFeであるのが好ましい。この金属フタロシアニン化合物またはその塩は、前記式 (I I) 中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ および $R^4$ は、同一で、 $SO_3H$ 基であり、 $n_1$ 、 $n_2$ 、 $n_3$ および $n_4$ は、同一で、1であるのがより好ましい。そのような金属フタロシアニン化合物 (I I) またはその塩は、より具体的には、以下のような構造式で示されるものである。



金属フタロシアニン化合物 (I I) の塩は、ナトリウム塩または銅 (I) 塩であるのが、さらに好ましい。

15 金属フタロシアニン化合物 (I I) またはその塩が担持された本発明

の抗アレルギー羽毛は、例えば、以下の方法で製造することができる。  
まず、羽毛を前処理する。前処理としては、原料羽毛中の土砂、その他の不純物を除去する前除塵処理、小石、砂、脂肪酸等洗浄では除去できない埃、羽毛の垢を除去する洗浄前除塵処理、水（常温水、温水等）で  
5 の洗浄処理等が挙げられる。

次いで、金属フタロシアニン化合物（I I）またはその塩の水溶液中に80℃以上100℃以下で、30分～2時間の間、前処理された羽毛を浸漬させ、水で洗浄し、脱水、および乾燥することにより、この金属フタロシアニン化合物（I I）またはその塩が担持された抗アレルギー  
10 羽毛を製造することができる。

この金属フタロシアニン化合物（I I）またはその塩の水溶液中のそれらの含有量は、羽毛重量に対して、0.01質量%以上10質量%以下が好ましく、0.1質量%以上5質量%以下がより好ましい。

この金属フタロシアニン化合物（I I）またはその塩の水溶液には、  
15 ギ酸、酢酸、塩酸、リン酸、クエン酸など酸性染法で一般的に使用する酸等を含んでもよい。前記酸は、羽毛を構成するアミノ酸のアミノ基のカチオン化、金属フタロシアニン化合物の溶解性を落として羽毛に担持しやすくするために用いる。

金属フタロシアニン化合物（I I）またはその塩が担持された抗アレルギー羽毛は、さらに、媒染剤、フィックス剤等で処理されてもよい。  
前記媒染剤としては、タンニン酸、アルミニウム塩（例えば、酢酸アルミニウム、生みょうばん、焼きみょうばん等）、クロム酸（例えば、酢酸クロム、クロムみょうばん等）、鉄塩（例えば、スルファミン酸第二鉄、木酢酸鉄、塩化第一鉄、硫酸第一鉄等）、スズ塩（例えば、錫酸ソーダ、塩化第一錫等）、銅塩（例えば、酢酸銅等）、バリウム塩（例えば、塩化バリウム等）等を用いることができる。前記フィックス剤としては、  
25

銅塩（例えば、硫酸銅等）、アルミニウム塩、第4級アンモニウム塩等を用いることができる。前記媒染剤で処理すると、金属フタロシアニン化合物（I I）中の遊離の $\text{SO}_3\text{H}$ 基または $\text{COOH}$ 基は塩を形成することができ、この金属フタロシアニン化合物（I I）または塩の羽毛への担持を強固にすることができる。従って、金属フタロシアニン化合物（I I）またはその塩が担持された抗アレルギー羽毛を洗濯しても、長期に渡ってその担持を保つことができる。

本発明は、金属フタロシアニン化合物（I I）またはその塩が担持された抗アレルギー羽毛を含む組成物である。前記組成物は、他の素材と組み合わせて、羽毛製品などの成形品に加工されてもよい。

本発明は、金属フタロシアニン化合物（I I）またはその塩が担持された抗アレルギー羽毛を含む羽毛製品である。前記羽毛製品としては、羽毛布団などの寝具、羽毛ジャケットなどの衣類が挙げられる。

以下、実施例2、3により本発明の抗アレルギー羽毛を更に具体的に説明する。なお、この実施例においてかさ高性は、JIS L 1903 羽毛試験方法に準じて、温度20℃関係湿度65%の試験室において測定した。

#### （実施例2）

前除塵処理、洗浄前除塵処理および水での洗浄処理を行ったグース羽毛（ダウン85質量%、スモールフェザー15質量%）（かさ高性153mm）を準備した。

一方、前記式（I X）で示されるコバルトフタロシアニンポリスルホン酸ナトリウム0.5質量%（対羽毛重量比）およびギ酸2質量%（対羽毛重量比）を、30倍の容量の水に溶解させ、試薬溶液を調製した。

この試薬溶液中へ前記羽毛を浸漬させ、97℃で50分間放置した。コバルトフタロシアニンポリスルホン酸ナトリウムは大部分、羽毛に吸

尽された。

その後、羽毛を水でよく洗浄して残存する試薬溶液を除去した。続いて、脱水および乾燥して、コバルトフタロシアニンポリスルホン酸ナトリウムが担持された抗アレルギー羽毛（かさ高性 1.53 mm）を得た。

- 5 このようにして得た羽毛は、金属フタロシアニン化合物またはその塩が担持される前の羽毛と比較して、手触り、かさ高性の点においては全く変化がなかった。

（実施例 3）

- 10 前除塵処理、洗浄前除塵処理および水での洗浄処理を行ったグース羽毛（ダウン 85 質量%、スモールフェザー 15 質量%）を準備した。

- 一方、前記式（IX）で示されるコバルトフタロシアニンポリスルホン酸ナトリウム 0.5 質量%（対羽毛重量比）、ギ酸 2 質量%（対羽毛重量比）を、30 倍の容量の水に溶解させ、試薬溶液を調製した。この試薬溶液中へ前記羽毛を浸漬させ、97℃で50分間放置した。その後、  
15 羽毛を水でよく洗浄して残存する試薬溶液を除去した。続いて、脱水および乾燥させた。

- また、硫酸銅五水和物 1 質量%（対羽毛重量比）を、30 倍の容量の水に溶解させ、試薬液を調製した。この試薬溶液中へ前記羽毛を浸漬させ、30℃で30分間放置した。その結果、銅イオンがコバルトフタロ  
20 シアニンポリスルホン酸と結合し、前記式（X）で示される銅塩である不溶体を形成した。

- その後、羽毛を水でよく洗浄して残存する試薬溶液を除去した。続いて、脱水および乾燥して、金属フタロシアニン化合物の銅塩（X）が担持された抗アレルギー羽毛を得た。このようにして得た羽毛は、金属フ  
25 タロシアニン化合物またはその塩が担持される前の羽毛と比較して、手触り、かさ高性の点においては全く変化がなかった。

(評価)

1. ダニアレルゲン吸着力試験

実施例 2 および 3 で得た、金属フタロシアニン化合物 (I I) または  
その塩が担持された抗アレルゲン羽毛を試料とし、ダニアレルゲンの吸  
5 着力を以下のようにして測定した。対照試料としては、実施例 2 および  
3 において、試薬溶液処理を行っていない羽毛、すなわち、前除塵処理、  
洗浄前除塵処理および水での洗浄処理を行ったグース羽毛 (ダウン 8 5  
質量%、スモールフェザー 1 5 質量%) を用いた。

ダニアレルゲン抗原溶液 (アサヒビール 社製、精製ダニアレルゲン  
10 r D e r 2 (商品名)) ( $1 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) ( $200 \mu\text{l}$ ) 中に、各試料 ( $2$   
 $\text{mg}$ ) を入れ、 $25^\circ\text{C}$  で 1 時間の間、浸漬させた。試料を取り出した後  
の溶液を遠心分離 ( $10000 \text{rpm}$ 、3 分間) した後、上澄み液 ( $10$   
 $0 \mu\text{l}$ ) を E L I S A 法で測定した。

酵素免疫測定法 (E L I S A 法) での測定方法

15 (1) 抗原のコーティング

マイクロプレート (塩化ビニル製 9 6 ウエルプレート、D y n a t e  
c h 社製) に、前記上澄み液を  $100 \mu\text{l}$  / ウエル注入し、 $25^\circ\text{C}$  で 2  
時間維持した。その後、マイクロピペットを用いて、前記上澄み液をウ  
エルから除去した。P B S 溶液で 3 回ウエルを洗浄した。

20 (2) B S A によるブロッキング

B S A 溶液 (V E C T O R 社製、B O V I N E S E R U M A L B U  
M I N (商品名)) ( $1\%$  ( $\text{w}/\text{v}$ )) を、前記マイクロプレートに  $10$   
 $0 \mu\text{l}$  / ウエル注入し、 $25^\circ\text{C}$  で 1 時間維持した。その後、マイクロピ  
ペットを用いて、前記上澄み液をウエルから除去した。 $0.05\%$  T w  
25 e e n - P B S 溶液で 1 回ウエルを洗浄した。

(3) 抗原への 1 次抗体の反応

前記マイクロプレートにダニアレルゲン抗体溶液（アサヒビール社製、抗D e r f 2モノクローナル抗体（商品名））（ $5\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を、 $100\mu\text{l}$ ／ウェル注入し、 $25^\circ\text{C}$ で2時間維持した。

（4）酵素標識された2次抗体の反応

- 5     ビオチン（B i o t i n）標識された抗マウスI g G（H+L）抗体溶液（V E C T O R社製、B I O T I N Y L A T E D   A N T I - M O U S E   I g G（H+L）（商品名））（ $1\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を、前記マイクロプレートに $100\mu\text{l}$ ／ウェル注入し、 $25^\circ\text{C}$ で2時間維持した。その後、マイクロピペットを用いて、前記抗体溶液をウェルから除去した。
- 10    0.05% T w e e n - P B S 溶液で1回ウェルを洗浄した。

（5）アビジン（A V I D I N）による修飾

- アビジン溶液（V E C T O R社製、A L K A L I N E   P H O S P H A T A S E   A V I D I N   D（商品名））（ $100\text{unit}$ ）を、前記マイクロプレートに $100\mu\text{l}$ ／ウェル注入し、 $25^\circ\text{C}$ で0.5時間維持した。その後、マイクロピペットを用いて、前記上澄み液をウェルから除去した。0.05% T w e e n - P B S 溶液で3回ウェルを洗浄した。
- 15

（6）発色基質との反応

- P N P P 溶液（V E C T O R社製、P - N I T R O P H E N Y L   P H O S P H A T E（商品名））（ $500\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を、前記マイクロプレートに $100\mu\text{l}$ ／ウェル注入し、 $25^\circ\text{C}$ で10分間維持した。その後、 $5\text{N}$    N a O H 水溶液を $100\mu\text{l}$ ／ウェルに注入し、反応を停止させた。
- 20

（7）測定

- 25     マイクロプレートリーダー（B I O - R A D社製、M I C R O P L A T E   R E A D E R   M o d e l   5 5 0（商品名））を用いて、40

5 nm以上の吸光度を測定し、各試料に含まれるダニアレルゲンの濃度を定量した。試料を浸漬する前のダニアレルゲンの濃度（ $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ ）と、試料を浸漬した後のダニアレルゲンの濃度から、以下の式に従い、試料のダニアレルゲン吸着率を算出した。

$$5 \quad \text{吸着率 (\%)} = \left[ \frac{(\text{試料浸漬後のダニアレルゲンの濃度: } \mu\text{g}/\text{ml})}{(\text{試料浸漬前のダニアレルゲンの濃度: } 1 \mu\text{g}/\text{ml})} \right] \times 100$$

表 5

	吸着率
実施例 2	93%
実施例 3	91%
対照	22%

得られた結果から明らかなように、本発明の金属フタロシアニンの誘導体が担持された抗アレルゲン羽毛は、防ダニ剤を用いず、かつ、ダニアレルゲンを吸着する能力に優れることが確認できた。従って、本発明の羽毛は、防ダニ剤を用いず、かつ、抗アレルゲン効果に優れる。

#### 産業上の利用可能性

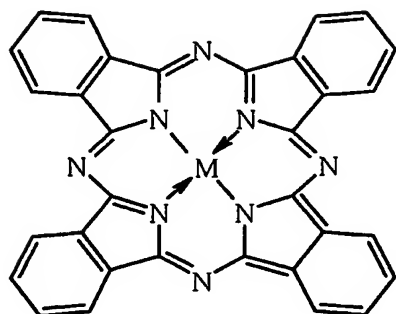
15 本願発明のアレルゲンの分解剤は、その有効成分である金属フタロシアニンの誘導体の働きによってアレルゲンを分解する薬効が実験的に確認され、また安全性が実験的に確認もされているから、薬剤として利用可能である。

さらに、本発明の抗アレルゲン羽毛は、アレルゲンを吸着する効果も有するから、それを含む組成物、羽毛製品に適用できる。



## 請 求 の 範 囲

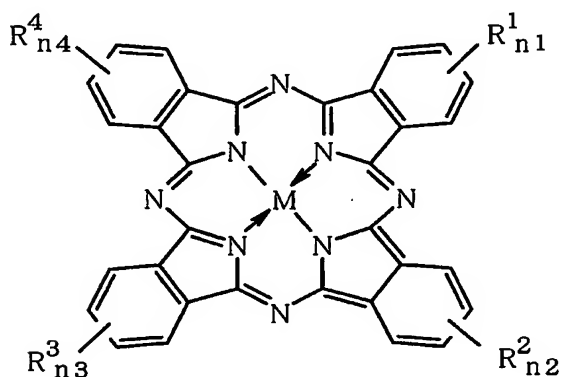
## 1. 下記式 (I)



... (I)

- (式 (I) 中、MはFe、Co、Mn、Ti、V、Ni、Cu、Zn、  
5 Mo、W、Osから選択される金属)で示される金属フタロシアニンの誘導体を有効成分に含むことを特徴とするアレルギーの分解剤。

## 2. 前記金属フタロシアニンの誘導体が、下記式 (II)



... (II)

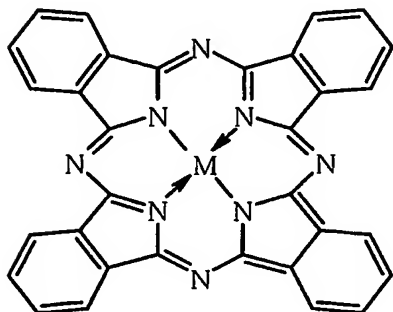
- (式 (II) 中、Mは、前記式 (I) に同じ； $R^1_{n1}$ 、 $R^2_{n2}$ 、 $R^3_{n3}$   
10 および $R^4_{n4}$ は、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ および $R^4$ が同一または異なり、COOH基および $\text{SO}_3\text{H}$ 基の少なくとも何れかの置換基であり、 $n1$ 、 $n2$ 、 $n3$ および $n4$ が同一または異なり、 $0 \sim 4$ で、かつ、 $1 \leq n1 + n2 + n3 + n4 \leq 8$ を満たす該置換基の数である。)で示される化合物、またはその塩であることを特徴とする請求項1に記載のアレルギーの  
15 分解剤。

3. 前記金属フタロシアニンの誘導体が、金属フタロシアニンジカルボン酸、金属フタロシアニンテトラカルボン酸、金属フタロシアニンオクタカルボン酸、金属フタロシアニンジスルホン酸、金属フタロシアニンテトラスルホン酸、金属フタロシアニンオクタスルホン酸、またはこれら酸の塩であることを特徴とする請求項1に記載のアレルゲンの分解剤。

4. 前記アレルゲンが蛋白質アレルゲンであることを特徴とする請求項1に記載のアレルゲンの分解剤。

5. 前記金属フタロシアニンの誘導体を、担体に担持または混合してあることを特徴とする請求項1に記載のアレルゲンの分解剤。

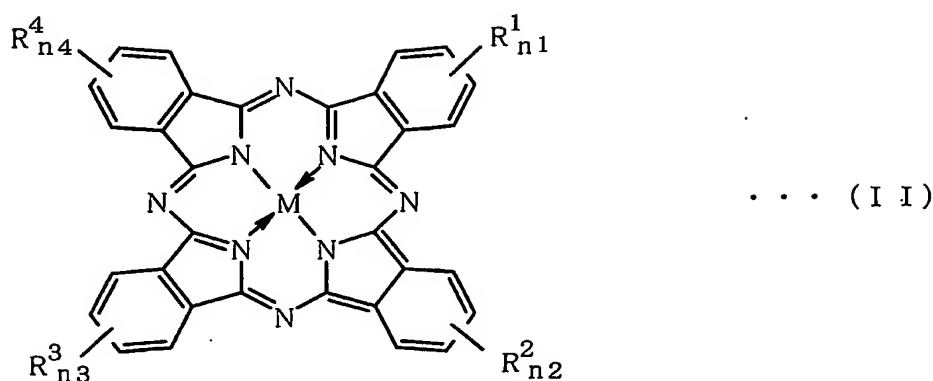
6. 下記式(I)



... (I)

(式(I)中、MはFe、Co、Mn、Ti、V、Ni、Cu、Zn、Mo、W、Osから選択される金属)で示される金属フタロシアニンの誘導体を有効成分に含むアレルゲンの分解剤を生活環境内に置くことを特徴とするアレルゲンの分解方法。

7. 前記金属フタロシアニンの誘導体が、下記式(II)



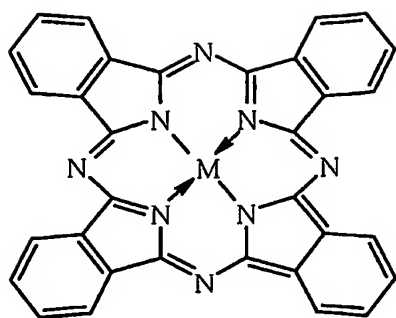
(式 (I I) 中、Mは、前記式 (I) に同じ； $R^1_{n1}$ 、 $R^2_{n2}$ 、 $R^3_{n3}$  および  $R^4_{n4}$  は、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  が同一または異なり、COOH 基および  $\text{SO}_3\text{H}$  基の少なくとも何れかの置換基であり、 $n1$ 、 $n2$ 、  
 5  $n3$  および  $n4$  が同一または異なり、 $0 \sim 4$  で、かつ、 $1 \leq n1 + n2 + n3 + n4 \leq 8$  を満たす該置換基の数である。) で示される化合物、  
 またはその塩であることを特徴とする請求項 6 に記載のアレルゲンの  
 分解方法。

8. 前記金属フタロシアニンの誘導体が、金属フタロシアニンジカルボ  
 10 ン酸、金属フタロシアニンテトラカルボン酸、金属フタロシアニンオク  
 タカルボン酸、金属フタロシアニンジスルホン酸、金属フタロシアニン  
 テトラスルホン酸、金属フタロシアニンオクタスルホン酸、またはこれ  
 ら酸の塩であることを特徴とする請求項 6 に記載のアレルゲンの分解  
 方法。

15 9. 前記アレルゲンが蛋白質アレルゲンであることを特徴とする請求項  
 6 に記載のアレルゲンの分解方法。

10. 前記アレルゲンの分解剤は、前記金属フタロシアニンの誘導体を、  
 担体に担持または混合してあることを特徴とする請求項 6 に記載のア  
 レルゲンの分解方法。

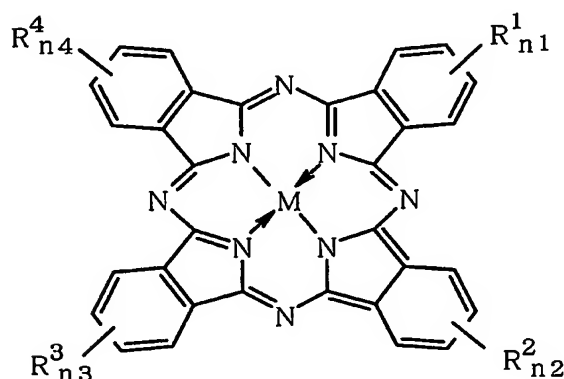
20 11. 下記式 (I)



... (I)

(式 (I) 中、MはFe、Co、Mn、Ti、V、Ni、Cu、Zn、Mo、W、Osから選択される金属)で示される金属フタロシアニンの誘導体が羽毛に担持されていることを特徴とする抗アレルギー羽毛。

5 12. 前記金属フタロシアニンの誘導体が、下記式 (II)



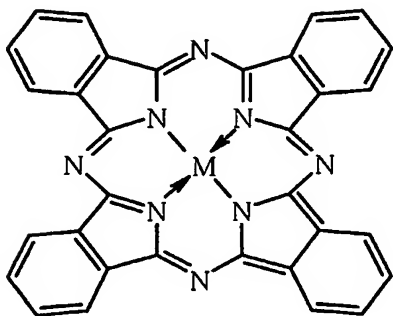
... (II)

(式 (II) 中、Mは、前記式 (I) に同じ;  $R^1_{n1}$ 、 $R^2_{n2}$ 、 $R^3_{n3}$  および  $R^4_{n4}$  は、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  が同一または異なり、COOH基およびSO<sub>3</sub>H基の少なくとも何れかの置換基であり、 $n1$ 、 $n2$ 、 $n3$  および  $n4$  が同一または異なり、0~4で、かつ、 $1 \leq n1 + n2 + n3 + n4 \leq 8$ を満たす該置換基の数を示す。)で示される化合物、  
10 またはその塩であることを特徴とする請求項11に記載の抗アレルギー羽毛。

13. 前記塩が、ナトリウム塩または銅 (II) 塩であることを特徴とする請求項11に記載の抗アレルギー羽毛。  
15

14. 前記金属フタロシアニンの誘導体の担持量が、前記羽毛の重量に対して、0.1質量%以上10質量%以下であることを特徴とする請求項11に記載の抗アレルギー羽毛。

15. 下記式(I)

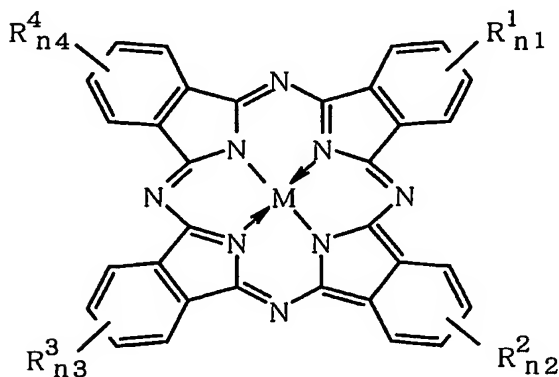


... (I)

5

(式(I)中、MはFe、Co、Mn、Ti、V、Ni、Cu、Zn、Mo、W、Osから選択される金属)で示される金属フタロシアニンの誘導体が羽毛に担持されている抗アレルギー羽毛を、含んでいることを特徴とする組成物。

10 16. 前記金属フタロシアニンの誘導体が、下記式(II)



... (II)

(式(II)中、Mは、前記式(I)に同じ;  $R^1_{n1}$ 、 $R^2_{n2}$ 、 $R^3_{n3}$  および  $R^4_{n4}$  は、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  が同一または異なり、COOH基および $\text{SO}_3\text{H}$ 基の少なくとも何れかの置換基であり、 $n1$ 、 $n2$ 、

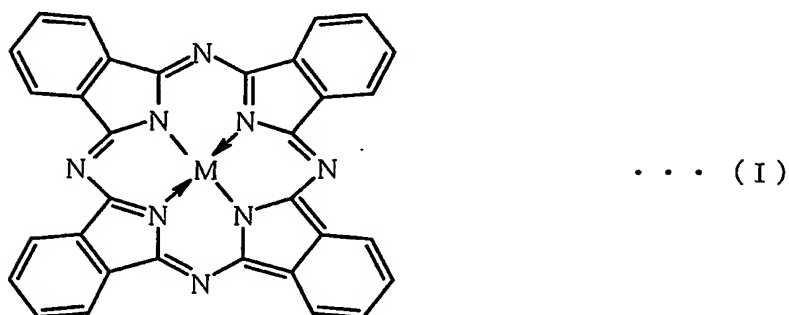
15  $n3$  および  $n4$  が同一または異なり、 $0 \sim 4$  で、かつ、 $1 \leq n1 + n2$

+ n<sub>3</sub> + n<sub>4</sub> ≤ 8 を満たす該置換基の数を示す。) で示される化合物、またはその塩であることを特徴とする請求項 15 に記載の組成物。

17. 前記塩が、ナトリウム塩または銅 (II) 塩であることを特徴とする請求項 15 に記載の組成物。

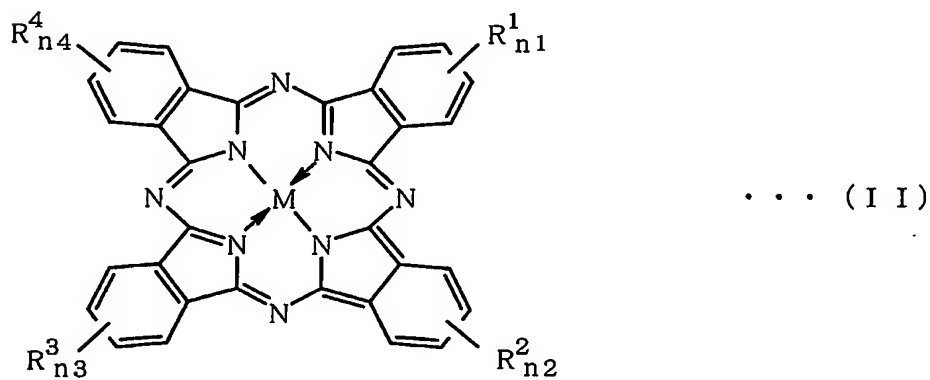
5 18. 前記金属フタロシアニンの誘導体の担持量が、前記羽毛重量に対して、0.1 質量%以上 10 質量%以下であることを特徴とする請求項 15 に記載の組成物。

19. 下記式 (I)



10 (式 (I) 中、M は Fe、Co、Mn、Ti、V、Ni、Cu、Zn、Mo、W、Os から選択される金属) で示される金属フタロシアニンの誘導体が羽毛に担持されている抗アレルギー羽毛を、含んでいることを特徴とする羽毛製品。

20. 前記金属フタロシアニンの誘導体が、下記式 (II)



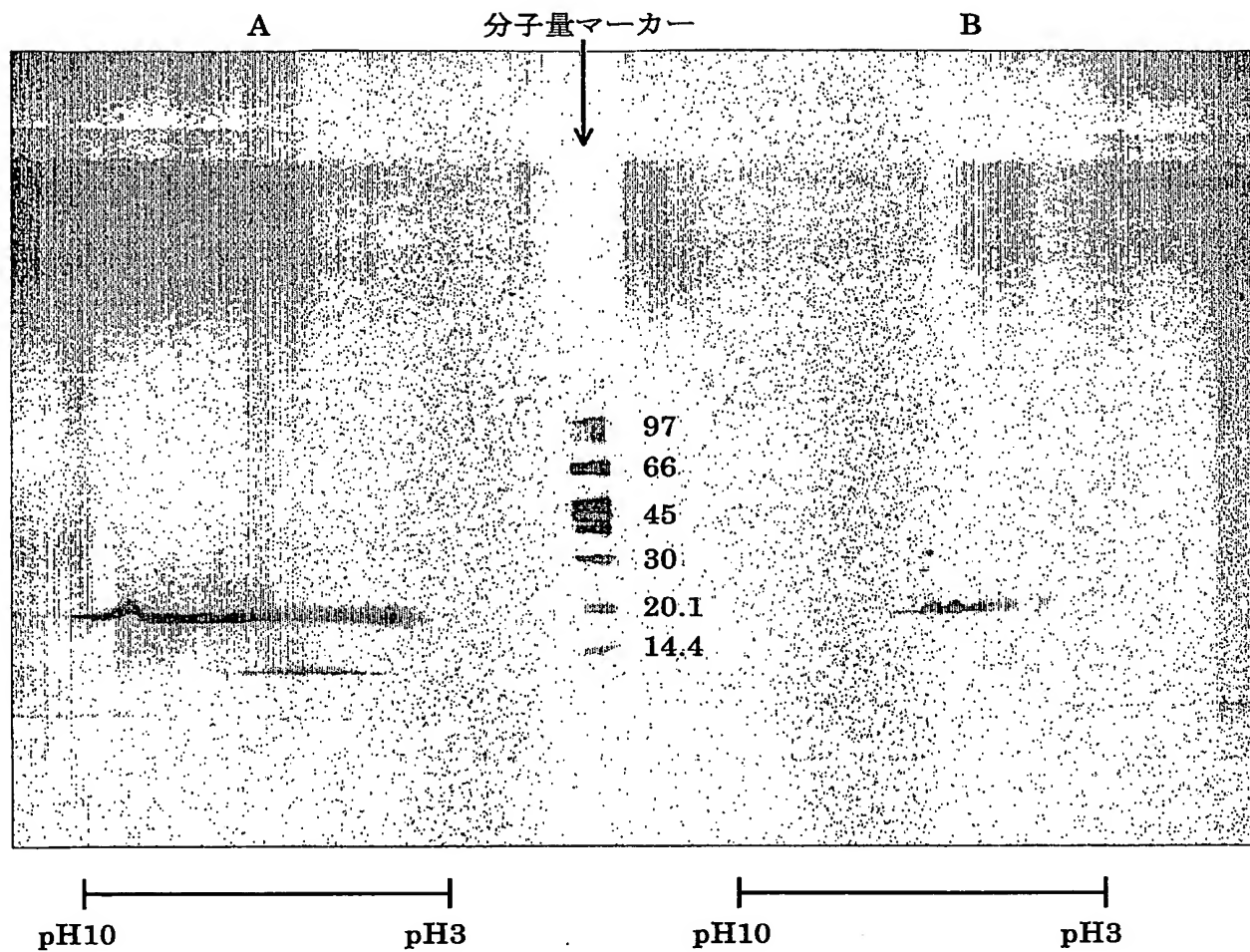
(式 (I I) 中、Mは、前記式 (I) に同じ； $R^1_{n1}$ 、 $R^2_{n2}$ 、 $R^3_{n3}$  および  $R^4_{n4}$  は、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  が同一または異なり、COOH 基および  $SO_3H$  基の少なくとも何れかの置換基であり、 $n1$ 、 $n2$ 、 $n3$  および  $n4$  が同一または異なり、 $0 \sim 4$  で、かつ、 $1 \leq n1 + n2 + n3 + n4 \leq 8$  を満たす該置換基の数を示す。) で示される化合物、  
5 またはその塩であることを特徴とする請求項 19 に記載の羽毛製品。

21. 前記塩が、ナトリウム塩または銅 (I I) 塩であることを特徴とする請求項 19 に記載の羽毛製品。

22. 前記金属フタロシアニンの誘導体の担持量が、前記羽毛重量に対して、 $0.1$  質量%以上  $10$  質量%以下であることを特徴とする請求項  
10 19 に記載の羽毛製品。

1/4

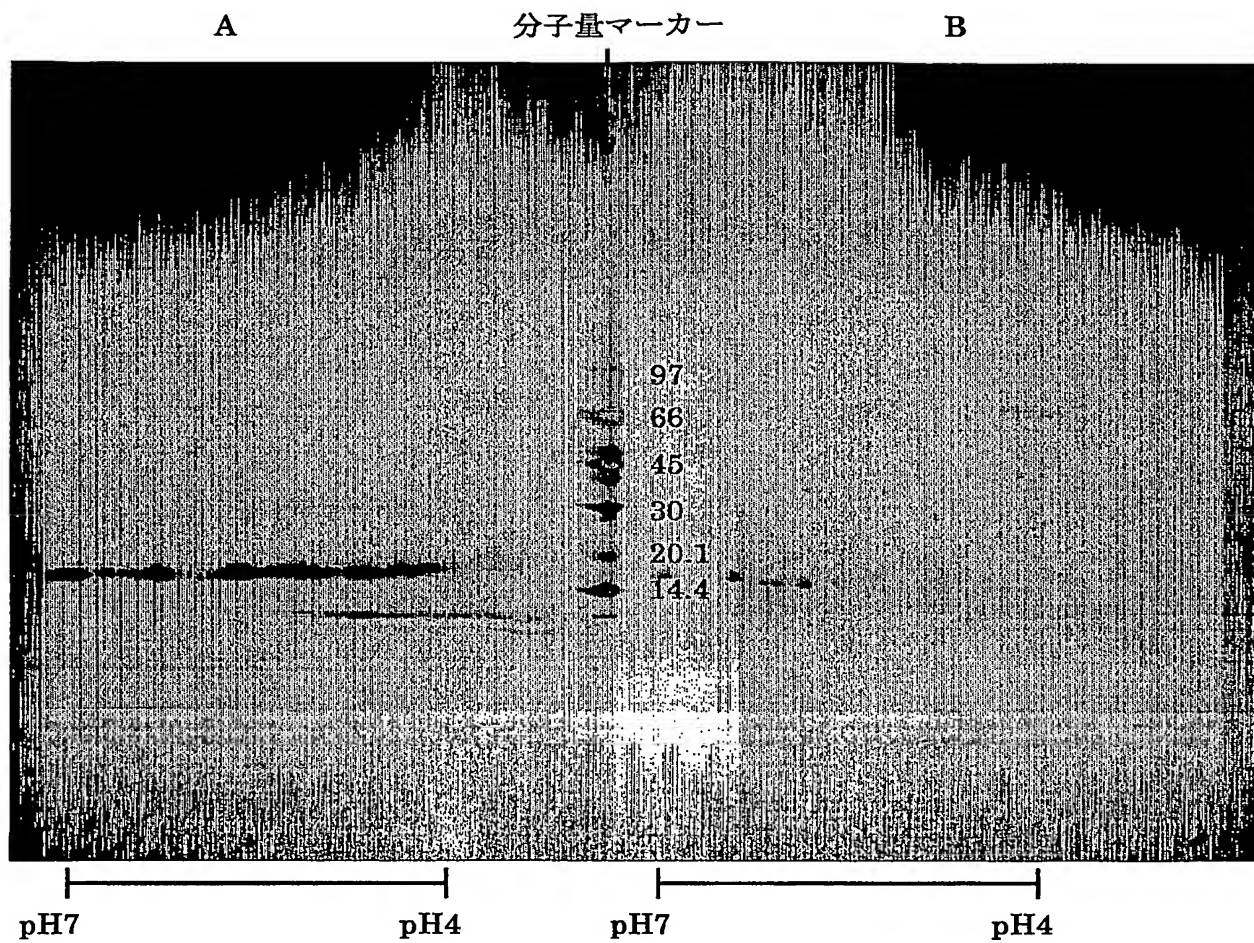
図 1





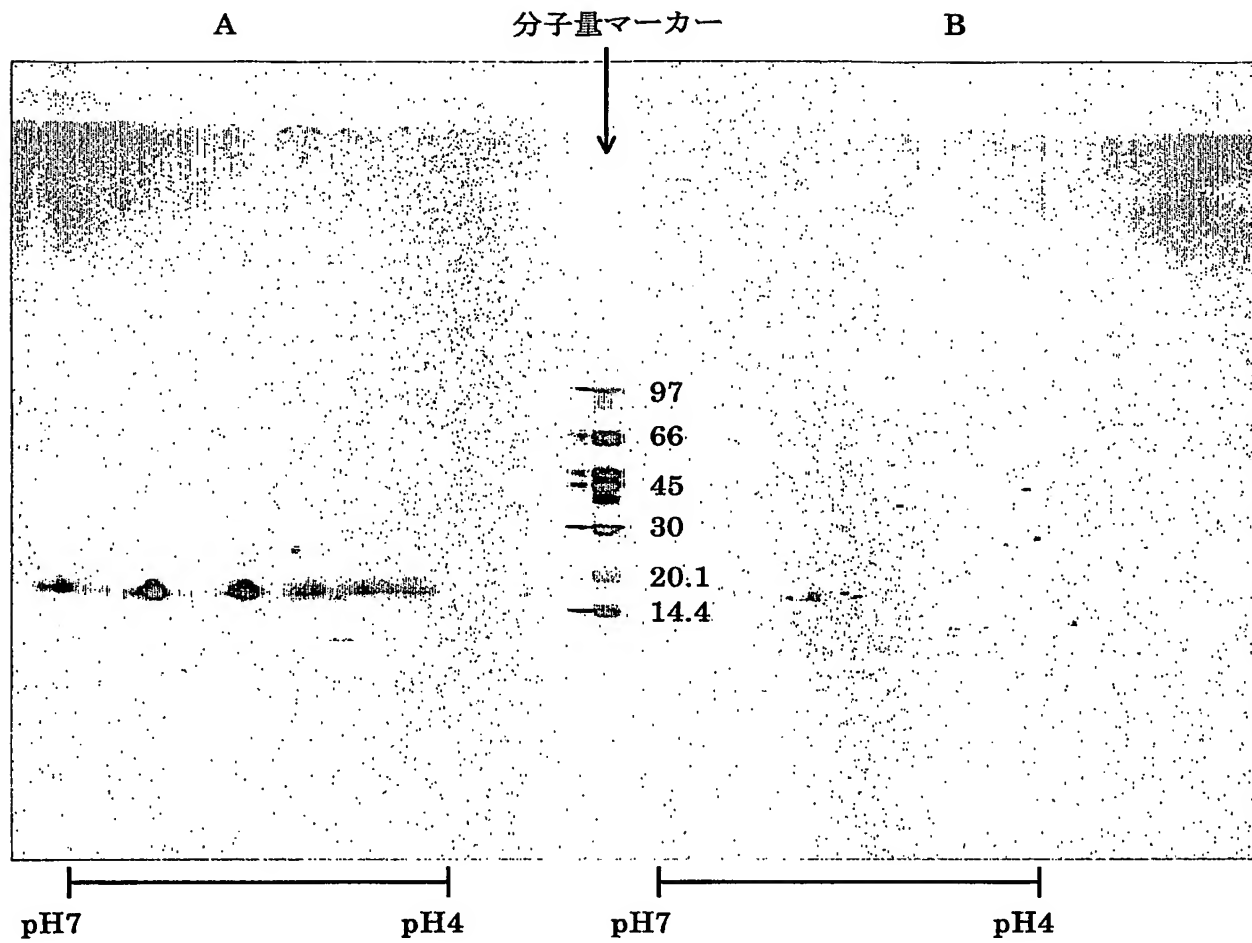
2/4

図 2



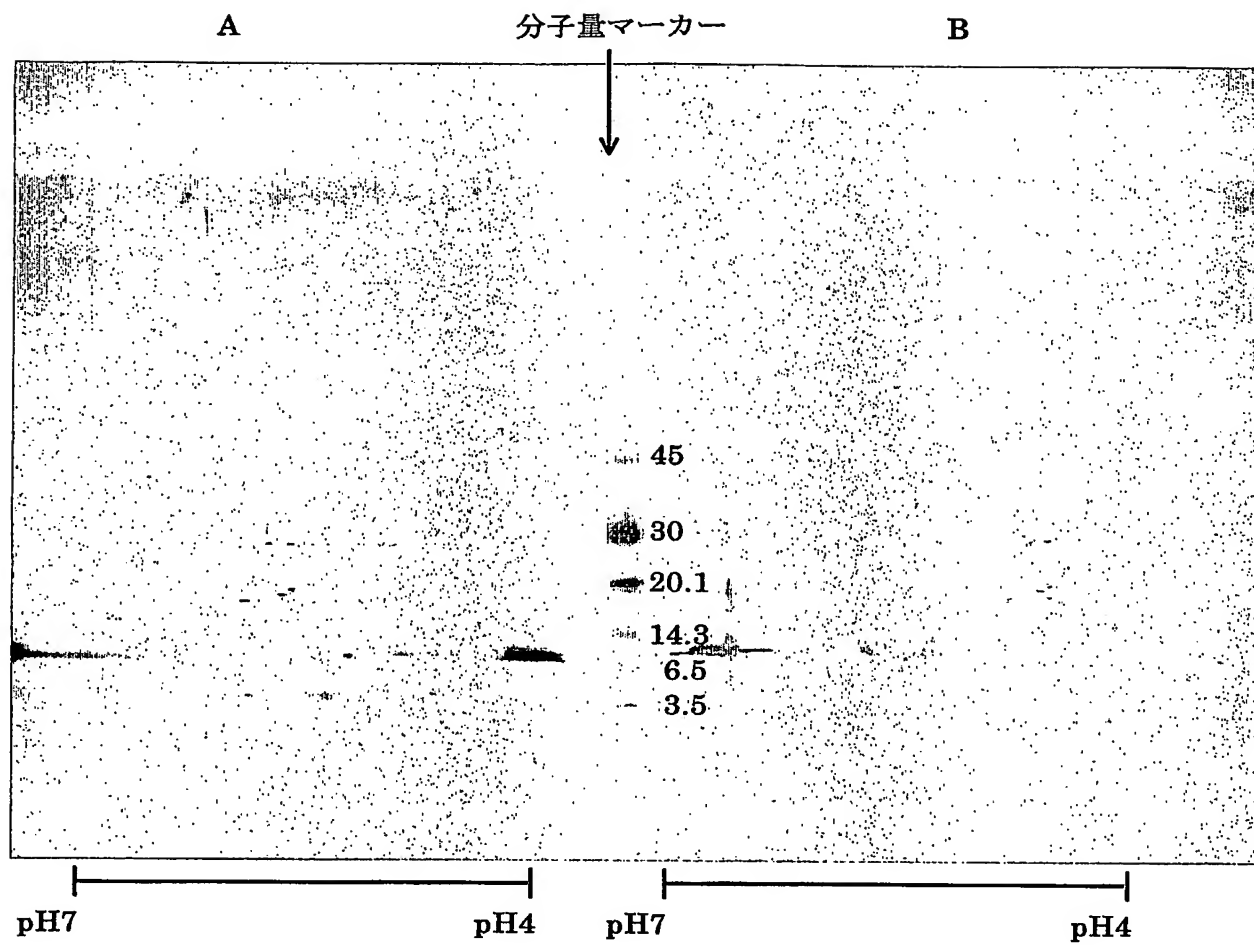
3/4

図 3



4/4

図 4



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/004445

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.<sup>7</sup> C09K3/00, C07D487/22, D06M11/62//D06M101:12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.<sup>7</sup> C09K3/00, C07D487/22, D06M11/62

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

STN(CA, REGISTRY)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP 1-111067 A (Kabushiki Kaisha Asukurin), 27 April, 1989 (27.04.89), Claims; page 4, lower right column, line 9 to page 5, lower right column, line 18 (Family: none)	11-22 1-10
Y	JP 10-273875 A (Kohjin Co., Ltd.), 13 October, 1998 (13.10.98), Claims 1 to 6; Par. No. [0025] (Family: none)	11-22
A	JP 2001-214367 A (Shinto Fine Kabushiki Kaisha), 07 August, 2001 (07.08.01), (Family: none)	1-22



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 May, 2004 (27.05.04)

Date of mailing of the international search report

22 June, 2004 (22.06.04)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl <sup>1</sup> C09K3/00, C07D487/22, D06M11/62 // D06M101:12		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl <sup>1</sup> C09K3/00, C07D487/22, D06M11/62		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) STN (CA, REGISTRY)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 1-111067 A (株式会社アースクリーン) 1989. 04. 27、特許請求の範囲、第4頁右下欄第9行~第5頁右下欄第18行 (ファミリーなし)	11-22
A		1-10
Y	JP 10-273875 A (株式会社興人) 1998. 10. 13、請求項1~6, 【0025】 (ファミリーなし)	11-22
A	JP 2001-214367 A (シントーファイン株式会社) 2001. 08. 07 (ファミリーなし)	1-22
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 27. 05. 2004	国際調査報告の発送日 22. 6. 2004	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 山田 泰之	4V 3344
電話番号 03-3581-1101 内線 3483		